

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA



**EL ORIGEN DE LOS MAPUCHES Y SU RELACIÓN CON
OTROS AMERINDIOS SEGÚN LOS GENES HLA**

**MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR**

Carlos Hernando Parga Lozano

MADRID, 2013

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA



**EL ORÍGEN DE LOS MAPUCHES Y SU RELACIÓN CON
OTROS AMERINDIOS SEGÚN LOS GENES HLA**

TESIS DOCTORAL

CARLOS HERNANDO PARGA LOZANO

Madrid, 2013

TESIS DOCTORAL



EL ORÍGEN DE LOS MAPUCHES Y SU RELACIÓN CON OTROS AMERINDIOS SEGÚN LOS GENES HLA

AUTOR: Carlos Hernando Parga Lozano

DIRECTOR: Prof. Dr. Antonio Arnáiz Villena

Catedrático Universidad Complutense de Madrid.

Centro de Transfusión de la Comunidad de Madrid

LUGAR DE REALIZACION: Centro de Transfusión de la Comunidad
de Madrid
Universidad Complutense, Madrid

FACULTAD DE MEDICINA

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

2013

Don Antonio Arnáiz Villena, Doctor en Medicina y Cirugía,
Catedrático de Inmunología de la Universidad Complutense de
Madrid, Centro de Transfusión de la CAM.

CERTIFICA: Que don Carlos Hernando Parga Lozano ha
realizado bajo su dirección el trabajo de tesis
doctoral que lleva por título " El origen de los
Mapuches y su relación con otros Amerindios
según los genes HLA ".

Revisado el presente trabajo, considero que tiene la debida
calidad para su defensa y calificación.

Prof. Dr. Antonio Arnáiz Villena

Dedicatoria
a Alejandra, Carlos, mis Padres y Claudia

AGRADECIMIENTOS

Deseo hacer constar mi gratitud al Profesor Dr. Antonio Arnáiz Villena por su ayuda no sólo en este trabajo sino en todos los realizados, por transmitirme la pasión por la inmunogenética y por convertirse en mi maestro.

A la licenciada Raquel Reguera a quién con sus valiosas contribuciones a mi formación técnica fueron significativas para el alcance de este objetivo.

A mis compañeros Diego, Mercedes, Cristina y Pablo por su contribución científica y especialmente por su amistad.

A la Universidad del Sinú Seccional Cartagena, a Colciencias, a LASPAU, la Facultad de Medicina de la UCM, al Centro de Transfusión de la Comunidad de Madrid y a Madrid.

Gracias a mi madre y mi padre, pilares fundamentales de mi formación. A mis hermanos Alex, Rosario y Mayo y sus hijos Jennifer, Santiago y M^a Camila que siempre han estado a mi lado apoyándome.

Por último, pero no menos importante, a mi núcleo familiar Claudia, Alejandra y Carlitos quienes tuvieron que soportar un sacrificio que nunca voy a poder pagarles.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN.....	4
I. EL SISTEMA MAYOR DE HISTOCOMPATIBILIDAD HUMANO (HLA).....	4
1. Generalidades, definición e Historia.....	4
2. Localización y estructura.....	5
2.1. Mapa genético del sistema HLA.....	5
3. Polimorfismo de los loci HLA.....	6
3.1. Genes HLA de clase I clásicos.....	6
3.2. Pseudogenes.....	7
3.3. Genes truncados.....	7
3.4. Segmentos génicos.....	8
4. Estructura génica de los antígenos HLA de clase I clásicos.....	8
5. Estructura proteica de los antígenos HLA de clase I clásicos.....	8
6. Región HLA de clase II.....	9
6.1. Estructura proteica de los antígenos HLA de clase II.....	9
6.2. Región de genes HLA de clase II.....	10
6.3. Estructura génica de los antígenos HLA de clase II.....	10
7. El sistema HLA y la genética comparada de poblaciones.....	12
7.1. Aplicaciones de las frecuencias de alelos HLA en estudios de poblaciones...13	
7.2. Aplicaciones de la genealogía de los alelos HLA a estudios poblacionales....14	

8. Asociación entre HLA y enfermedad. Epidemiología genética.....	15
8.1. Enfermedades ligadas a HLA.....	15
9. HLA y farmacogenómica.....	17
10. HLA y trasplante.....	19
10.1. Órganos Sólidos.....	20
10.2. Médula Ósea.....	20
II. POBLAMIENTO DE AMÉRICA Y GRUPOS ÉTNICOS.....	21
1. Introducción.....	21
2. Teorías asociadas al origen de las poblaciones Amerindias.....	22
2.1. Hipótesis de Greenberg.....	23
2.2. La ruta transpacífica.....	25
2.3. La ruta transatlántica.....	26
3. Aspectos arqueológicos y lingüísticos relacionados con el poblamiento de América.....	27
4. Estudios moleculares relacionados con el poblamiento de América.....	28
4.1. DNA mitocondrial.....	29
4.2. Cromosoma Y.....	31
5. El descubrimiento de América.....	33
6. Población Mapuche.....	35

7. Estudio del sistema HLA en poblaciones Amerindias.....	39
7.1. Polimorfismo de los genes HLA en Amerindios.....	39
7.2. Estudios genéticos HLA en las poblaciones Amerindias.....	41
OBJETIVOS.....	43
MATERIALES Y MÉTODOS.....	45
1. Población estudiada.....	45
2. Selección de individuos.....	45
3. Extracción de DNA y Genotipificación de HLA.....	47
4. Análisis estadístico.....	54
RESULTADOS.....	56
1. Frecuencias características de alelos HLA encontradas en la población de Mapuches.....	56
2. El análisis de HLA para los Mapuches con respecto a otras poblaciones Amerindias.....	58
2.1. Distribución de los alelos HLA encontrados en la población Mapuche.....	61
3. Análisis de desequilibrio de ligamiento HLA-A, -B, -DRB1 y -DQB1 en Mapuches, comparada con poblaciones Amerindias.....	66

4. Características de las frecuencias de los alelos HLA encontrados en la población

Mapuche: Comparación con otras poblaciones del Mundo.....69

DISCUSIÓN.....74

1. Mapuches y otras poblaciones Amerindias.....74

2. Lenguajes Amerindios.....75

3. Comparación de los Amerindios con todas las poblaciones del Mundo.....77

4. Programas de trasplante y elaboración de listas de espera virtuales y cooperativas.....79

5. Mapuches y Enfermedad ligadas a HLA: farmacogenómica.....80

CONCLUSIONES.....84

BIBLIOGRAFÍA.....86

ANEXOS.....117

Anexo 1: Curriculum vitae.....117

Anexo 2: Publicaciones relacionadas con la tesis doctoral.....124

Anexo 3: Tabla completa de Haplotipos extendidos139



Representación de Guamán Poma de Ayala sobre un enfrentamiento entre un grupo de indígenas del actual Chile (izquierda) y el capitán Apu Camac Inca.



Marido y mujer Mapuche (Araucana)



Hija del Cacique Mapuche Quilpran



Familia Mapuche en el Siglo XIX

INTRODUCCIÓN

I. EL SISTEMA PRINCIPAL DE HISTOCOMPATIBILIDAD HUMANO (HLA)

1. Generalidades, definición e historia:

El complejo principal de de histocompatibilidad ha sido estudiado como un grupo de moléculas que se utilizan para la compatibilidad de órganos en el caso de los trasplantes. Estas moléculas son unas glucoproteínas de membrana que pertenece a la superfamilia de las inmunoglobulinas. Sus genes se encuentran ubicados en el cromosoma 6 de los humanos y constituye uno de los conjuntos de genes más polimórficos del genoma (1).

Estos grupos son de tres tipos: la HLA-I, la HLA-II y la HLA-III. En este grupo de genes se pueden apreciar grupos distintos que codifican para moléculas denominadas antígenos leucocitarios humanos o HLA (de sus siglas en inglés, Human Leukocyte Antigens). Este último grupo es menos polimórfico pero participa en la respuesta inmunitaria, ya que posee varios genes que se activan al iniciarse la respuesta inflamatoria, como los del complemento, como el del TNF y las proteínas de shock térmico, entre otras. Los otros dos son altamente polimórficos y codifican para proteínas que tienen la capacidad de captar antígenos procesados en el interior de las células presentadoras de antígenos y presentarlos al linfocito T, de la siguiente manera: las moléculas HLA-I presentan antígenos a los linfocitos T CD8, especialmente aquellos derivados del procesamiento endógeno procedentes de los virus, antígenos

neoplásicos y patógenos intracelulares y las moléculas HLA-II presentan antígenos a los linfocitos T CD4, derivados del procesamiento de patógenos extracelulares (1).

Esta presentación conlleva a la activación y diferenciación los linfocitos T hacia unos clones reactivos contra el patógeno y de esta forma poder neutralizar la enfermedad (1).

Dentro de las moléculas HLA-I también se aprecia una subdivisión: las HLA-Ia o clásicas, cuyos representantes son las HLA-A, -B, y C. Estas participan en la presentación directa hacia linfocitos y su consecuente respuesta hacia el patógeno. También están las HLA-Ib o no clásicas, cuyo papel se ha reconocido principalmente como moléculas inmunosupresoras. Dentro de ellas las principales son las HLA-E, -F y -G. Respecto a esta última, se ha logrado localizar en varios tejidos del organismo, pero de manera principal en el citotrofoblasto durante el período de embarazo, para la defensa del feto y para evitar su rechazo por parte del sistema inmunitario de la madre (1).

2. Localización y estructura (Figura 1)

2.1. Mapa genético del sistema HLA.

El sistema HLA se localiza físicamente en el brazo corto del cromosoma 6, en la parte distal de la banda 6p21.3 y ocupa una longitud de 4 centimorgan (CM), aproximadamente 4 millones de pares de bases (2). En el primer mapa genético completo del sistema HLA se han identificado 224 loci, de los cuales 128 podrían

expresarse y al 40% de estos se les supone función inmunológica (3). Dependiendo del origen genético y/o funcionalidad biológica de sus productos, el conjunto de genes de esta región tradicionalmente se ha dividido en 2-4 grandes grupos (4). En la actualidad se admiten tres regiones bien definidas, aunque la caracterización funcional y evolutiva de otros genes en esta región no excluye una revisión futura de esta clasificación.

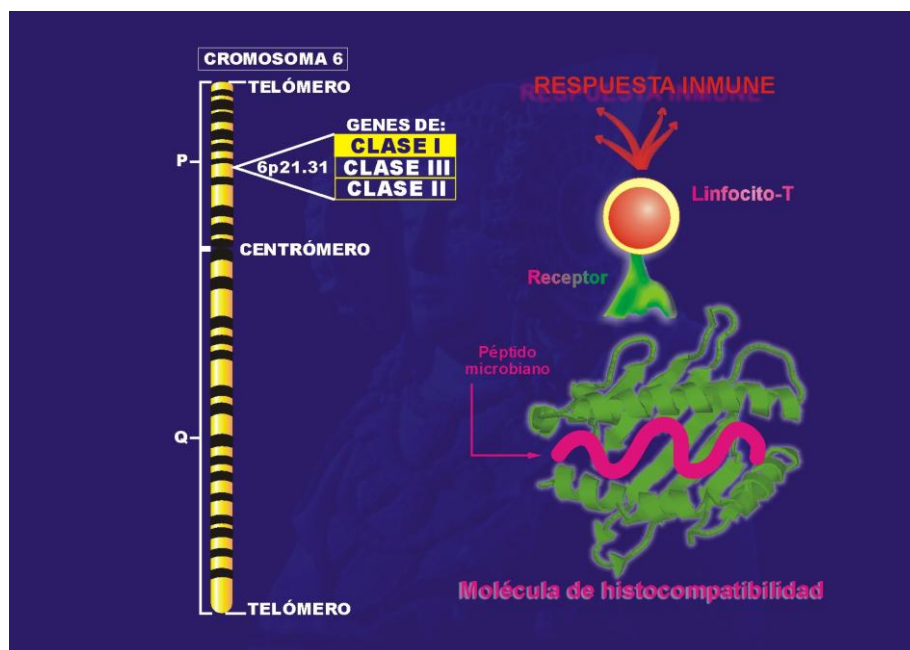


Figura 1. Mapa genético de la HLA, cromosoma 6. (5)

3. Polimorfismo de los loci HLA

3.1. Genes HLA de clase I clásicos (Figura 1):

A este grupo pertenecen los genes HLA-A, -B y -C. Son los primeros descritos dentro del sistema HLA. Codifican para glicoproteínas de membrana que se expresan en prácticamente todas las células del organismo, si bien su nivel de expresión varía desde un máximo en células pertenecientes al sistema inmune (linfocitos T, B y

macrófagos) hasta un mínimo en células musculares, del sistema nervioso y fibroblastos. Son moléculas implicadas en la restricción del reconocimiento antigénico mediada por linfocitos T citotóxicos CD8+ (1).

También se hallan presentes en el cromosoma 6 los genes para las moléculas HLA de clase I no clásicos: Son HLA-E, -F y -G. Codifican para proteínas estructuralmente similares a las de los genes clásicos. Se diferencian básicamente de los anteriores por su limitada expresión tisular, su menor polimorfismo y su función inmunosupresora (1).

3.2. Pseudogenes:

Los primeros pseudogenes descritos fueron nombrados como HLA-H, -J, -K y -L (6). Se sitúan en las proximidades de HLA-A, teloméricos o centroméricos a éste. Todos ellos tienen en común la presencia de deleciones que dan lugar a codones de terminación prematuros. Se desconoce si tienen alguna función biológica.

3.3. Genes truncados:

Son los denominados HLA-16, -75, -80 y -90. Presentan homología con los genes de clase I en zonas extensas (7). HLA-75 es el único que tiene homología con la región 5'UT de los genes de clase I; los demás la presentan con la región 3'UT.

3.4. Segmentos génicos:

Son las secuencias más pequeñas y con un menor grado de homología con clase I, pero se observa en cortas regiones exón/intrón. Aquí se incluyen HLA-17, -21, -30 y -81. HLA-81 mapea fuera del sistema HLA y únicamente presenta homología con exones 8 y región 3'UT (1).

4. Estructura génica de los antígenos HLA de clase I clásicos.

Estos genes están organizados en 8 exones (8) que codifican varias regiones: exón 1 codifica para 5'UTR (no traducida) y para el péptido líder de 24 aminoácidos. Los exones 2 y 3 son los más polimórficos y codifican respectivamente para los dominios alfa1 y alfa2. El exón 4 es poco polimórfico y codifica para el dominio alfa3. Así mismo, el exón 5 codifica para el segmento transmembrana y el dominio citoplasmático está codificado por los exones 6 y 7 más parte del 8 para las moléculas HLA-A y -C y 6 y 7 para las -B. El resto del 8 codifica para el 3'UTR (no traducido) (9).

5. Estructura proteica de los antígenos HLA de clase I clásicos.

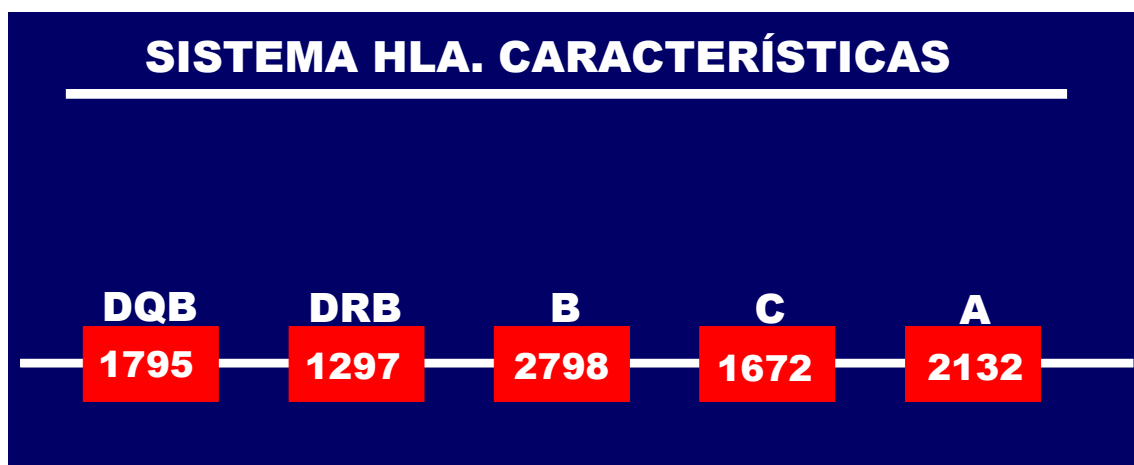


Figura 2. Polimorfismo alélico de la moléculas HLA clase I y clase II, Octubre 2012

Los antígenos (moléculas) HLA de clase I clásicos (HLA-A, HLA-B y HLA-C) son glicoproteínas de membrana compuestas por dos cadenas polipeptídicas: una cadena pesada (alfa) de 44 kilodaltons (Kd) codificada en el sistema HLA y una cadena ligera (beta) de 12 Kd denominada beta2-microglobulina (beta2m), cuyo gen se encuentra fuera del sistema HLA en el cromosoma 15 (10). El extremo aminoterminal de esta cadena está orientado hacia el exterior de la célula. Ambas cadenas se unen no covalentemente en su porción extracelular.

La cadena alfa está formada por 338 aminoácidos para el locus HLA-B y 341 aminoácidos para los loci HLA-A y HLA-C y 3 dominios alfa 1, 2 y 3 (11).

Los dominios alfa1 y alfa2 de la cadena pesada son altamente polimórficos a diferencia del dominio alfa3. Este último y la beta2m presentan alta homología de secuencias (12). El dominio conservado alfa3 interactúa con el correceptor CD8 en el linfocito T (13,14). Las moléculas HLA pertenecen a la superfamilia de las inmunoglobulinas por tener un origen evolutivo común (12,15-17). Los dominios alfa1 y alfa2 forman el sitio de unión al péptido microbiano procesado, e interactúan con el TCR (12,18). Los residuos polimórficos relacionados con la unión al péptido antigénico se hallan principalmente en el dominio alfa1 y en el dominio alfa2 (19).

6. Región HLA de clase II (Figuras 1 y 2).

6.1. Estructura proteica de los antígenos HLA de clase II.

Las moléculas de clase II (HLA-DP, -DQ y -DR) son heterodímeros transmembrana formados por dos cadenas, una cadena α de 33-35 (Kd) y otra β de 26-28 Kd asociadas no covalentemente. Se orientan de tal manera que sus extremos amino-terminal aparecen fuera de la célula.

Ambas cadenas presentan dos dominios extracelulares de 90 a 100 aas designados como $\alpha 1$, $\alpha 2$ y $\beta 1$, $\beta 2$. Los dominios $\beta 1$ son todos más polimórficos y en algún caso los $\alpha 1$ también (-DQ α , -DP α). Los dominios $\alpha 2$ y $\beta 2$ son homólogos a las regiones constantes de las inmunoglobulinas. Un péptido conector hidrofóbico (10 a 12 aas) une los dominios extracelulares de ambas cadenas a las respectivas porciones transmembrana (20 a 25 aas) y a los segmentos citoplasmáticos (8 a 15 aas) (20).

6.2. Región de genes HLA de clase II.

Los genes de clase II se definen con la letra D, seguida de la inicial de la subregión (P, Q o R) y de la letra A para los genes que codifican cadenas α , o B para los genes que codifican cadenas β . Además, se le añade un número para designar cual es el gen A o B de cada subregión. En esta misma región se localizan otra serie de genes de clase II: HLA-DNA, HLA-DOB y HLA-DM (-A y -B), además de los genes TAP y LMP implicados en el procesamiento antigénico de las moléculas de clase I (1).

6.3. Estructura génica de los antígenos HLA de clase II.

La correspondencia entre los exones de los genes de clase II y los dominios estructurales de la proteína madura a la que dan lugar es casi perfecta. En la figura 2 se

expresa el número de los genes A y B que codifican respectivamente para las cadenas α y β de los antígenos de clase I y II que más se utilizan en estudios de genética de poblaciones (1).

Las cadenas α se sintetizan a partir de genes A de 5 exones que incluyen la región 5'UT, el exón 1 que codifica para el péptido líder, los exones 2 y 3 lo hacen para los dominios α_1 y α_2 respectivamente, el exón 4 da lugar al péptido conector, la región transmembrana y el dominio citoplasmático. La región 3'UT es codificada en parte por el exón 4 y el resto por el exón 5 (1).

Los genes que dan lugar a las cadenas β están constituidos por 6 exones. El péptido líder está codificado por un exón, dos exones para los dominios de proteína β_1 y β_2 , un cuarto exón para el péptido conector, el dominio transmembrana y parte del dominio citoplasmático, y el resto de este dominio está originado por al menos dos exones más, si bien esto último varía en las diferentes subregiones (1).

El tamaño de los intrones es muy variable. El más grande, que mide varias Kb, es el intrón 1 que separa los exones 1 y 2 de los genes A. En los genes B, también es muy grande el intrón 2, entre los exones 2 y 3. El intrón más pequeño encontrado en los genes de clase II es el intrón 3 del gen DNA, con un tamaño de 180 pares de bases (pb) (1).

7. El sistema HLA y la genética comparada de poblaciones.

En los últimos años, se han realizado un gran número de estudios genéticos para progresar en el conocimiento de la historia y las migraciones de las distintas poblaciones, correlacionando estos datos con teorías antropológicas, lingüísticas y de otras disciplinas. Muchos de estos estudios genéticos se han basado en el sistema HLA (1).

El elevado polimorfismo y el desequilibrio de ligamiento del sistema HLA hacen que éste se haya utilizado como "herramienta" para individualizar etnias e inferir su constitución genética, sus movimientos migratorios y establecer relaciones genéticas entre poblaciones (e individuos) desde el "1st HLA Intrnational Workshop" de Antropología (21), en los siete Talleres Internacionales de Histocompatibilidad posteriores, y en multitud de publicaciones. En el 12º Taller Internacional de Histocompatibilidad de 1996, se llevaron a cabo estudios genético-antropológicos HLA sobre 128 poblaciones de todo el mundo, repartidas en regiones geográficas concretas (22). El interés creciente junto con el desarrollo y estandarización de técnicas de genética molecular para la determinación de antígenos HLA de clase II y más recientemente de clase I permite una mayor accesibilidad a estos estudios, aunque no todos rinden resultados con el mismo nivel de caracterización (serológico y genético) y son, por tanto, difíciles de comparar. La discriminación del sistema HLA se incrementa cuanto mayor sea la caracterización de los alelos en las poblaciones comparadas. Además, hay que señalar que el estudio conjunto de frecuencias HLA y otras de

sistemas menos polimórficos (ABO, MN, Rh, etc) tiende a homogeneizar las comparaciones realizadas restando fuerza de discriminación al sistema HLA (23).

Las frecuencias de los alelos HLA correlacionan con la existencia o ausencia de flujo genético entre poblaciones y este puede ser “medido”, puesto que sus características HLA no se han diluido con el tiempo, mediante el estudio de sus correspondientes distancias genéticas y la presencia de haplotipos HLA con fuerte desequilibrio de ligamiento (24-26). Estudios realizados en la población de San Sebastián muestran que los vascos son un aislado poblacional, no sólo cultural sino también genético, pero que mantiene muchas similitudes con los españoles, portugueses y argelinos según sus perfiles HLA y la presencia de haplotipos extendidos HLA compartidos. (23,27,28). Otro ejemplo, son las poblaciones nativas americanas (Amerindios) que poseen un restringido espectro de antígenos HLA (p.e.: B15, B35, B39, B40) respecto a los caucasoides, y cuyos subtipos alélicos sólo se han encontrado en estas poblaciones (29,30). Asimismo, las poblaciones orientales, caucasoides y negroides muestran alelos HLA y diferencias en sus frecuencias que sirven como marcadores genéticos poblacionales.

7.1. Aplicaciones de las frecuencias de los alelos HLA en estudios de poblaciones.

La mayoría de los alelos se encuentran en todos los grupos étnicos, aunque algunos alelos difieren en frecuencia entre grupos étnicos, por ejemplo el antígeno A1 está predominantemente en Caucasoides, donde tiene una frecuencia de 15% y está casi ausente en japoneses (0,5%), mientras su frecuencia en población negra es 3,3%. Las frecuencias de

alelos y haplotipos (grupos de alelos asociados HLA) también varían cuantitativamente en grupos étnicos. La variabilidad interregional entre 15 provincias francesas puede ser demostrada usando el sistema HLA, semejante como en China. El análisis de la frecuencia de distribución de los alelos HLA clase I (A,B y C) y II (DRB1 y DQA1), muestra que esta es significativamente diferente estadísticamente de las expectativas derivadas del modelo neutral: los alelos están también, incluso en frecuencia, implicados en alguna forma de selección de balance (31).

7.2. Aplicaciones de la genealogía de los alelos HLA en estudios poblacionales.

El patrón y la medida de la variación (polimorfismo) en loci genéticos, cuando se combina con la teoría genética de las poblaciones, puede proveer algunas claves para entender la historia evolutiva de los organismos. En tal búsqueda, es importante delimitar el período de tiempo durante el cual el polimorfismo ha persistido. El tiempo de persistencia de los alelos puede diferir de locus a locus, debido a la naturaleza estocástica intrínseca del polimorfismo y a la diferencia en la importancia relativa del mecanismo evolutivo involucrado. Los alelos más polimórficos hasta ahora conocidos en poblaciones humanas son los alelos del locus clase II DRB1 del complejo principal de histocompatibilidad (MHC, HLA en humanos). El polimorfismo DRB1 es sin precedentes muy antiguo, y se remonta a la separación de primates del Nuevo y del Viejo Mundo (32).

8. Asociación entre HLA y enfermedad. Epidemiología genética.

La primera vez que se estableció relación entre el sistema HLA y una enfermedad fue en pacientes con linfoma de Hodgkin, que presentaban una frecuencia de antígenos HLA-B por encima de la media (33). Desde entonces, numerosas variantes alélicas de genes HLA han sido asociadas con enfermedades autoinmunes, inflamatorias e infecciosas. Sin embargo, el carácter multifactorial de muchas de estas enfermedades sumado al elevado polimorfismo de algunos de estos genes y el fuerte desequilibrio de ligamiento existente entre ellos dificulta en la mayoría de los casos la determinación de la variante alélica implicada así como su grado de participación en la enfermedad. De hecho, siempre existe la sospecha de que los factores responsables de estas patologías pueden no residir en genes HLA, pero sí en otros estrechamente ligados a ellos. Además, el estudio de estas enfermedades en grupos antropológicamente distintos muestra con frecuencia asociaciones diferentes (34).

8.1. Enfermedades ligadas a HLA

HLA y autoinmunidad.

La mayoría de enfermedades autoinmunes están asociadas a factores HLA, aunque los mecanismos responsables de esta asociación no están claros. La idea más extendida es que se rompe la tolerancia inmunológica hacia proteínas propias cuando moléculas HLA de clase II activan linfocitos T auto-reactivos al presentarles péptidos propios o extraños. La asociación más fuerte es la que relaciona la espondilitis anquilosante (inflamación crónica que afecta principalmente a la columna vertebral) con el grupo de alelos HLA-B27, presentes en el 95% de los pacientes. Otras

enfermedades que tienen el sistema HLA como principal factor asociado son la esclerosis múltiple (inflamación crónica del sistema nervioso central asociada a variantes alélicas del antígeno HLA-DR2), la diabetes tipo 1 (destrucción de células beta productoras de insulina en los islotes de Langerhans del páncreas mediada por linfocitos T, con un 50% de asociación con haplotipos HLA de clase II), el lupus eritematoso sistémico (proceso autoinmune generalizado asociado a variantes alélicas de los antígenos HLA-DR2 y HLA-DR3), la colitis ulcerosa y la enfermedad de Crohn (procesos inflamatorios intestinales asociados a diversos alelos y haplotipos HLA de clase II) y la artritis reumatoide (proceso inflamatorio que afecta a las articulaciones de forma generalizada asociado a las variantes alélicas del locus HLA-DRB1). Sin embargo, la mayoría de estas asociaciones se han establecido casi exclusivamente en poblaciones de origen europeo (35,36).

HLA y patógenos.

La asociación entre el sistema HLA y enfermedades infecciosas se debería a la distinta capacidad que tienen los alelos de los genes implicados en la presentación antigénica para activar respuestas eficaces contra los patógenos. De ahí se derivaría que unos alelos (o haplotipos) confieran resistencia y otros sean factores de susceptibilidad. Nuevamente, el elevado polimorfismo de estos genes y los desequilibrios de ligamiento entre alelos hacen muy difícil atribuir estas cualidades de resistencia o susceptibilidad a alelos concretos. De hecho son muy pocos los alelos considerados asociados a enfermedades infecciosas en comparación con el gran número de variantes alélicas existentes. Además, la eficacia de unas proteínas de

histocompatibilidad puede estar condicionada por otras que se coexpresan con ellas (34).

Los casos más estudiados de asociación están relacionados con la malaria, la hepatitis B y el SIDA. Los individuos afectados de malaria (enfermedad producida por un protozoo parásito que invade los eritrocitos causando fiebre y anemia) son más resistentes a la enfermedad cuando poseen la variante alélica HLA-B*5301 (37). La hepatitis B (causada por una infección viral que, una vez establecida de forma crónica, puede derivar en cirrosis y carcinoma hepatocelular) es prevenida por los antígenos HLA-DR13, mientras que los alelos HLA-DRB1*11/*12 y HLA-DQB1*0301 actúan como factores de susceptibilidad (38). En el caso del SIDA (inmunodeficiencia provocada por la invasión viral de células T CD4+) está comprobado que los individuos con mayor probabilidad de supervivencia frente a la infección por el virus HIV-1 son, en general, los que presentan mayor grado de heterocigosidad en los genes HLA y ausencia de los antígenos HLA-B*35 y HLA-Cw*04 (39); en cualquier caso, se han identificado varios alelos y haplotipos de clase I y de clase II que confieren resistencia o susceptibilidad frente a la transmisión del virus y frente a la progresión de la enfermedad en individuos infectados tanto por HIV-1 (variante más virulenta) como por HIV-2 (variante menos virulenta) en distintos grupos humanos de estudio (40).

9. HLA y farmacogenómica

Un área que en los últimos diez años ha logrado algunos resultados prometedores en el área de la inmunogenética es la farmacogenómica, que se basa en

buscar secuencias polimórficas en diferentes sitios del genoma para relacionarlos con los efectos adversos (o favorables) desencadenados por los medicamentos comúnmente utilizados para diversas enfermedades (41,42). Dentro de los genes estudiados unos de los que son objeto directo de estos estudios son los HLA, cuyas moléculas han sido ampliamente analizadas en trabajos de asociación a enfermedades (41,42). En este orden, debido a que la mayoría de medicamentos produce efectos adversos los genes HLA están empezando a jugar un papel central en la identificación precoz de estas manifestaciones y por eso se han detectado algunos casos en que los medicamentos producen enfermedades como el síndrome de Steven-Johnson producto del uso del anticonvulsivante Carbamazepina y que se caracteriza por la presencia de ciertos alelos HLA como el HLA-B*1502, en este caso y otros alelos como HLA-B*5801 que generan reacción cutánea por el uso de alopurinol, entre los estudiados. En la tabla 1 se aprecian algunos de los medicamentos con sus reacciones adversas y los marcadores HLA asociados que se han encontrado en las poblaciones que se utilizan estos (41-46):

Tabla 1. Marcadores HLA asociados a efectos adversos de medicamentos

Medicamento	Uso	Efecto adverso	Alelo HLA asociado al efecto	Referencia
Carbamazepina	Anti-convulsivante	Síndrome de Steven Johnson	B*1502	(43-45)
Fenitoina	Antiepiléptico	Síndrome de Steven Johnson	B*1502	(45)
Alopurinol	Gota e Hiperuricemia	Síndrome de Steven Johnson y otras reacciones cutáneas	B*5801	(46)
Abacavir	Inhibidor de la Transcriptasa (VIH-1)	Fiebre, rash cutáneo, náusea, vómito diarrea	B*5701	(47,48)
Flucloxacilina	Antibiótico	Daño hepático	DRB1*0701	(49,50)

	betalactámico		B*5701	
Nevirapina	Inhibidor de la Transcriptasa (VIH-1)	Hepatitis, fiebre, rash	DRB1*0101	(51)
Ximelagatran	Anticoagulante inhibidor de la trombina	Eleva niveles séricos de alanina amino transferasa	DRB1*0701	(52)
Betalactámicos	Antibióticos	Alergias medicamentosa	A1, B8, DR3, DQ2	(53)
Aminopenicilina	Antibiótico	Alergia medicamentosa	A2, DRw52	(54)
Coamoxiclav	Combinación de antibióticos	Ictericia	DRB1*1501	(55)
Clozapina	Antipsicótico	Agranulocitosis	DRB5*0201	(56)
Sulfametoxazol	Antibiótico	Steven-Johnson	B*3802	(57)
Lamotrigina	Antiepiléptico	Steven-Johnson	B*3801	(57)
Oxicam	Anti-Inflamatorio no esteroideo	Steven-Johnson	B*7301	(57)
Aspirina	Anti-Inflamatorio, analgésico	Urticaria, angioedema, alergia	DRB1*1302, DQB1*0609, DPB1*0201	(58)

10. HLA y trasplante.

Se ha comprobado con estudios realizados tras seguimiento de pacientes con órganos trasplantados, que la compatibilidad entre donante y receptor en las moléculas HLA es necesaria para la mayor supervivencia del injerto en los casos de riñón, páncreas, pulmón, corazón, córnea, hígado e intestino. Esta compatibilidad, debe ser al menos con los antígenos pertenecientes a los loci HLA-B y –DR. La compatibilidad debe de ser máxima cuando se habla de trasplante de médula ósea para evitar que se produzca la llamada enfermedad del “injerto contra huésped”; un

único cambio en un aminoácido es suficiente para que se produzca esta patología (11,59).

10.1. Órganos Sólidos.

Es el proceso de injertar células, tejidos u órganos de un individuo a otro, quién provee el injerto se denomina donante y el que lo recibe, receptor. Cuando el órgano, tejido o célula no es aceptado por el receptor se produce el rechazo del trasplante (59-62).

Las moléculas HLA son responsables de casi todas las reacciones de rechazo rápido. El rechazo se puede generar por dos vías, una directa y una indirecta, donde sucede respectivamente, presentación directa de los antígenos del trasplante en las moléculas HLA de receptor y/o las células del receptor procesan las moléculas HLA del donante y se presentan a las células inmunocompetentes en el interior de las moléculas HLA del receptor (59,60,63,64).

10.2. Médula Ósea

En este tipo de trasplante, la compatibilidad máxima es necesaria para reducir el riesgo de enfermedad del injerto contra el huésped GVHD (del inglés Graft Versus Host Disease)(59). Consiste en el trasplante de células madre hematopoyéticas; posteriormente estas células repueblan la médula ósea del receptor y se diferencian en todos los linajes hematopoyéticos. Este trasplante sirve como tratamiento para defectos adquiridos y hereditarios del sistema hematopoyético o del inmunitario, ya

que ambos tienen un precursor común en la médula ósea, y en algunos defectos enzimáticos. También se utiliza como tratamiento de enfermedades tumorales (60,65).

II. POBLAMIENTO DE AMÉRICA Y SUS GRUPOS ÉTNICOS.

1. Introducción.

La población americana, está constituida por tres grupos principales de habitantes. El primero lo componen los descendientes de las poblaciones indígenas, es decir, individuos que no se mezclaron con la población que llegó desde Europa durante el descubrimiento y posterior asentamiento de tropas en América en el siglo XV y XVI. Estas poblaciones viven mayoritariamente en zonas rurales y organizadas en pequeños grupos por toda la geografía. Este aislamiento ha sido favorecido principalmente por las barreras geográficas, que dificultan el acceso a estas poblaciones. Estos grupos representan a los pobladores más antiguos y/o a los nativos del continente americano. El segundo grupo se encuentra constituido por la población mestiza (mezcla de nativos con europeos), representa el mayor porcentaje de la población y puede presentar diferentes grados de mestizaje dependiendo de la región, ocupan principalmente los núcleos urbanos de población. El último grupo es el denominado afro-americano, son principalmente mezcla entre africanos y europeos junto con los nativos, o simplemente de procedencia africana (11,66).

El importante número de grupos nativos, de los cuales, muchos permanecen aislados manteniendo su constitución genética inicial, constituyen el grupo de

población característico en varios países de América. Dado el conocimiento y evolución del origen de las poblaciones europeas y africanas llegadas a América, uno de los aspectos pendientes en el análisis de las poblaciones humanas, es el conocimiento del origen de los grupos nativos americanos y, este conocimiento, podrá ayudar a comprender la constitución genética de cada grupo en particular y su influencia en el comportamiento epidemiológico frente a microbios y migratorio y de emparentamiento con relación a otros grupos poblacionales (11,66).

2. Teorías asociadas al origen de las poblaciones Amerindias.

El poblamiento de América antes de 1492, así como el origen de las poblaciones nativas americanas, ha sido motivo de diversos estudios por dos razones principales. Por un lado, la casi ausencia hasta el momento de restos arqueológicos que demuestre la presencia de alguno de los representantes ancestrales del hombre moderno (*Homo sapiens*) en el territorio americano y por otro lado, el comportamiento genético observado en los Amerindios como grupo étnico "particular" (67), al haberse realizado estudios de genética poblacional(66).

Así, estas poblaciones aparecen poco relacionadas generalmente con poblaciones del resto del mundo, lo que hace suponer que el origen de estos grupos puede haberse iniciado en el viejo continente (Euro-Asia) y presentar una evolución divergente determinada principalmente por factores medioambientales que llevó a una diferenciación genética específica (66,68).

Por otra parte, la población Amerindia actual ha sido genéticamente influenciada a raíz del descubrimiento de América durante el siglo XV. La presencia de nuevos pobladores (genes) de Europa y África, contribuyeron al mestizaje genético de la población nativa inicial favoreciendo el origen de nuevos grupos que hoy día son parte importante del acervo genético y cultural de la población americana (66,69).

A continuación, se comentan las teorías más importantes que se han postulado para explicar cómo pudo poblarse el continente americano. Por supuesto, ninguna de estas teorías excluye a otras (11,66).

2.1. Hipótesis de Greenberg.

En el año 1986, el antropólogo Joseph Harold Greenberg propuso la teoría más importante. Apoyado en un estudio multidisciplinar (genético, dental y lingüístico), concluyó su teoría de las "tres oleadas migratorias", las cuales darían origen a los tres grupos de poblaciones primitivas en el continente americano (Figura 5) (11).

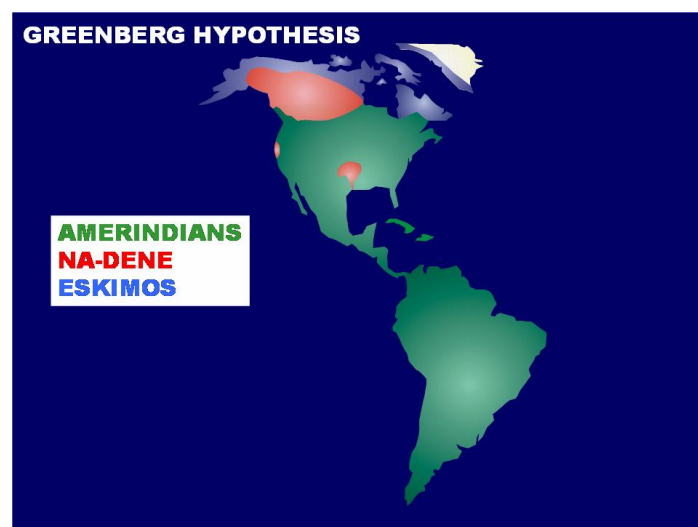


Figura 5. Poblamiento de América.

Basándonos en esta hipótesis, el poblamiento de América se iniciaría, hace unos 30.000 años, a partir de poblaciones nómadas siberianas y del norte de Asia que migraron hacia el nuevo continente gracias al paso firme existente en ese periodo entre Alaska y la península de Kamchatka debido a las glaciaciones que cubrieron de hielo las zonas Norte de Asia y de América. (68,70).

Así pues, la primera migración masiva, de los "Paleo-indios", habría entrado por Alaska, hace entre 30.000 y 15.000 años. Este hecho supone, la presencia de un corredor libre (o mixto) de hielo ubicado entre el extremo Este de Asia y Alaska (Beringia) (11,66).

Esta masa poblacional, daría lugar a dos grupos, los pertenecientes al primero se quedaron en regiones de Norteamérica y el resto continuó su extensión a Centro y Suramérica dando origen a los denominados Paleo-indios, representados actualmente por las poblaciones Amerindias (indígenas de Centro y Suramérica, en menor número en Norteamérica). Por otra parte, el aspecto relacionado con la vía de entrada por tierra, se apoya por el hecho de no existir evidencia histórica y/o arqueológica de la posibilidad de la entrada por mar a través de la navegación (11,66).

La segunda oleada migratoria, se habría producido hace 15.000-10.000 años. A esta segunda oleada, se le denomina la de pueblos Na-Dene, en base a los aspectos lingüísticos que presentan sus actuales representantes. Los grupos Na-Dene, tuvieron sus principales asentamientos en la parte más al sur de Alaska y también sobre la costa nor-occidental de Norteamérica. Otros autores, suponen además que parte de los

grupos Na-Dene migraron recientemente más al sur acercándose a Centroamérica. La relación lingüística de los grupos Na-Dene hace suponer un origen más al occidente de Rusia y norte del Cáucaso donde se encuentran grupos de poblaciones con lenguajes derivados del Na-Dene (66,67).

Por último, la tercera oleada migratoria, los Eskimo-Aleutianos entrarían a América hace 10.000-8.000 años. Estas poblaciones, se ubicaron en dos regiones diferentes probablemente para mantener su clima ártico y subártico. Los Aleutianos, se asentaron en las islas Aleutianas y los Eskimos en Alaska, las costas del norte y se expandieron hasta Groenlandia (66,68).

2.2. La ruta transpacífica.

Esta teoría está basada en resultados de distintos estudios de genética molecular y de enfermedad, de donde se propone la posibilidad de una ruta Transpacífica como vía de llegada a América para los primeros pobladores del Nuevo Mundo (11,66).

El alelo HLA-A*0211, fue descrito inicialmente en un individuo perteneciente a las poblaciones que habitan las regiones sur y del este de Asia (71) y, posteriormente encontrado en los Guaraníes de Brasil (72), lo cual sugirió una posible llegada a América a través del océano Pacífico. Además, estudios epidemiológicos en indígenas de Ecuador como los Cayapa y Chachi, han demostrado la presencia de deficiencias enzimáticas como por ejemplo la "deficiencia de la enzima aldehído-deshidrogenasa"

con características moleculares similares a la que se encuentra en habitantes de Japón y el sudeste asiático aunque ausente en poblaciones del norte de Asia (73,74). Algunas poblaciones japonesas, como los Ainu y los Ryuku considerados como los japoneses "antiguos", son denominadas "acetiladores lentos" basándose en esta clase de deficiencia(66).

Por otra parte, una elevada prevalencia de infección por el virus HTLV-1 con cepas virales idénticas, se encuentra en japoneses y asiáticos del sur y son las mismas que las encontradas en poblaciones de Chile, Brasil y Colombia, las cuales no están presentes en la región de Siberia (74,75). Además, otros marcadores como son los haplotipos del gen alfa-globina, haplotipos determinados en el DNA mitocondrial y haplotipos HLA de clase I y II estudiados en japoneses, polinesios Amerindios, podrían apoyar la hipótesis de una expansión de grupos asiáticos y de Oceanía hacia América (66,73,74).

Finalmente, el reciente descubrimiento de idénticas secuencias genómicas del virus HTLV-1 en momias del desierto de Atacama ubicado en el extremo norte de Chile (datadas en aproximadamente 1500 años), hace suponer contactos antiguos entre las regiones del sur de Asia y Suramérica (66,75,76).

2.3. La ruta transatlántica.

Al igual que existen teorías que explican el poblamiento de América a partir de una ruta transpacífica, también las hay desde el continente europeo a través del

Océano Atlántico. El arqueólogo Frank Hibben, propuso que las herramientas encontradas en la región de Nuevo México "Sandia Cave" denominadas "puntas de piedra", usadas por la civilización Clovis, eran semejantes a las usadas hace 20.000 años por los llamados gentes de cultura "Solutriense", que eran habitantes que vivían en Francia, España y Portugal en esa época. También se han encontrado distintas herramientas en el yacimiento de Cactus Hill (Virginia), que son más parecidas a las del suroeste de Europa que a las de Siberia, ya que éstas últimas eran bastante más gruesas (datadas entre 10.000-18.000 años). Además, de las comparaciones realizadas con las herramientas de los siberianos se deduce que son más parecidas a las europeas que a las siberianas, proponiendo una posible entrada de población vía marítima por el Océano Atlántico. Esta teoría no está muy aceptada, puesto que no hay evidencias de una tecnología naviera que pudiera llegar a América en aquella época desde Europa, pero sí se sabe que los primeros americanos usaban embarcaciones en las Channel Islands (frente a las costas de California) (11,66).

La relación guardada entre el tipo de herramientas utilizadas se considera por muchos como una "convergencia tecnológica" y no como una posible relación ancestral (77).

3. Aspectos arqueológicos y lingüísticos relacionados con el poblamiento de América.

Se han encontrado numerosos lugares tanto en Siberia como en América que apoyan desde el punto de vista antropológico que el modelo de las tres oleadas migratorias podría ser la hipótesis más probable de cómo se pobló el continente

americano. Pero, también se muestran hallazgos que no concuerdan con esta teoría (11).

De acuerdo a los diferentes hallazgos arqueológicos, los primeros pobladores de América podrían haber llegado hace 15.000 años. Sin embargo, los recientes descubrimientos de restos humanos en Monte Verde (Chile, cerca de Puerto Montt) datados en 33.000 años de antigüedad necesariamente hacen retroceder a unos 30.000 años la entrada de los primeros pobladores a la región de Alaska. Esta fecha más anterior, estaría de acuerdo con un tiempo más largo y suficiente para alcanzar Suramérica desde Alaska (11,66).

4. Estudios moleculares relacionados con el poblamiento de América.

Los estudios antropológicos y lingüísticos nos han ayudado a aproximarnos a cuándo y cómo se pudo poblar el continente americano. Además, con las nuevas tecnologías en biología molecular, podemos continuar descubriendo nuevos datos que nos ayuden a entender mejor este poblamiento (11) (78).

Tecnologías como estudios de polimorfismos de DNA en el cromosoma Y, análisis de DNA mitocondrial y análisis de los genes HLA entre otros, han incrementado favorablemente el conocimiento de las características genéticas de los pobladores de América y permiten su comparación con otras poblaciones alrededor del mundo para la elaboración de dendrogramas y/o emparentar poblaciones y finalmente hacer un análisis en conjunto con los datos históricos, lingüísticos y antropológicos (11) (78,79).

4.1. DNA mitocondrial.

El DNA mitocondrial humano tiene características únicas que lo hacen apropiado para estudios evolutivos. Posee una alta frecuencia de mutaciones (5 a 10 veces mayor que el DNA nuclear), no sufre recombinación génica y tiene una transmisión unidireccional por vía materna a lo largo de las generaciones (80). Su secuencia, que se conoce totalmente desde el año 1981, comprende 16569 pares de bases (81). Posee los genes para los ARN ribosomales 12s y 16s y para los ARNs de transferencia, además de otras 13 secuencias que codifican para proteínas implicadas en la maquinaria energética de la célula (82). El DNA mitocondrial tiene muy pocas regiones no codificantes, siendo la más importante la denominada región D-loop, que constituye el fragmento más largo de secuencia no codificante con una longitud de 1100 pares de bases, que es donde se regula y se inicia la replicación del DNA mitocondrial. Además, la zona D-loop posee un alto grado de polimorfismo, y es ahí donde se han centrado la mayoría de los estudios evolutivos recientes (79,83-86).

Los estudios antropológicos están basados en dos estrategias metodológicas diferentes. La primera de ellas consiste en el análisis de polimorfismos en la secuencia del DNA mitocondrial mediante el uso de enzimas de restricción. Los resultados obtenidos a partir de la aplicación de esta metodología permitieron caracterizar sitios de restricción polimórficos propios de determinadas razas o grupos étnicos (87). La segunda corresponde al análisis de polimorfismos de secuencia en el DNA mitocondrial, mediante la secuenciación de las regiones hipervariables I y II del D-loop (79,86,88,89).

Los análisis evolutivos mediante este marcador genético, sólo informan de manera macrogeográfica, es decir, no tienen tanta afinidad geográfica como lo puedan tener los estudios realizados con otros marcadores, como los genes HLA (11) (78).

Con respecto al poblamiento de América también se han realizado diversos estudios con el DNA mitocondrial, concluyendo que hubo más de una oleada migratoria proveniente de Asia que dio lugar a las actuales poblaciones Amerindias (90). Además, estos análisis proponen un origen de los pobladores de América a partir de antiguos grupos de poblaciones siberianas pasando a través del estrecho de Bering hace aproximadamente 30.000 años (79,86,91).

La mayoría de las poblaciones Amerindias se ubican en cuatro grupos o haplogrupos (92). Estos 4 haplogrupos fundadores, se designan como A, B C y D, y se definen en función de tres sitios de restricción polimórficos y de una delección en la región intergénica V (79).

El 3% de los haplogrupos mitocondriales, se corresponde con el haplogrupo X sólo encontrado en poblaciones de Norteamérica. Con respecto a este haplogrupo, hay diversas teorías de cómo entró en América, ya que es un haplogrupo europeo (93). Se ha comprobado que, en las poblaciones del sudoeste de Siberia (montes Altai), además de los 4 haplogrupos Amerindios, también se encuentra este haplogrupo X (94).

Finalmente, otra teoría asociada al poblamiento de América, propone una primera oleada migratoria con los haplogrupos A, C y D desde Siberia; y otra segunda

con la entrada del haplogrupo B desde el este de Asia (91,95,96). Además, se ha sugerido que el haplogrupo X entró como otra oleada migratoria (la tercera), desde algún lugar de Eurasia, ya que este haplogrupo se encuentra casi ausente en Siberia y bastante extendido en Europa y América (79,86,97).

4.2. Cromosoma Y.

Se han realizado muchos estudios basados en los polimorfismos de DNA en el cromosoma Y para investigar la migración masculina al continente americano durante el Pleistoceno (79,98,99).

El cromosoma Y se divide atendiendo a su funcionalidad en dos regiones: la primera, es la región pseudoautosómica (PAR1 y PAR2), llamada así, porque es homóloga con ciertas secuencias del cromosoma X para poder aparear correctamente los cromosomas sexuales durante la meiosis. La segunda región, es la específica masculina, MSY (del inglés, Male Specific Región Y) que antes se llamaba NRY (del inglés, Non-recombining Región Y). Esta región comprende el 95% del cromosoma Y. Con excepción de una región PAR1, el cromosoma Y se hereda en bloque, del padre al hijo, sin que haya recombinación, esto representa un registro enorme de mutaciones que se han ido "grabando" en el DNA a lo largo de la evolución humana, por esta razón, al cromosoma Y se le ha llamado "el narrador" del origen de las poblaciones y su dispersión (79,100,101).

El análisis de los microsatélites DYS19 y la región alfa-helicoidal (och), también denominada DYZ3, permiten identificar más de 45 haplotipos los cuales han sido estudiados en tribus que habitan desde México hasta Argentina definiendo al haplotipo HA como el principal haplotipo fundador en estas tribus (Frecuencia haplotípica: 74%-84%) (98). Este mismo análisis en tribus de Norteamérica como son los Muskoke (Creek) en Oklahoma (USA), demuestra un 38% de frecuencia en esta población lo que supondría un origen ancestral común entre los Amerindios de Norte y Suramérica (11,79,99).

El haplotipo formado por el alelo ah II, el alelo DYS19A y DYS119 (que cambia una base respecto al anterior), conforman el haplotipo fundador principal encontrado en las muestras de América del Norte y del Sur con una frecuencia de hasta el 90% en estos últimos, indicando una homogeneidad genética y un marcado efecto fundador. Por otra parte, el análisis de poblaciones como los grupos Eskimos y Na-Dene de Norteamérica también presentan este haplotipo principal aunque con una menor frecuencia a pesar de su alto mestizaje (102). De acuerdo al modelo de mutación secuencial, existe un haplotipo base (Haplotipo 10), que pudo estar presente en una población ancestral situada en algún sitio de Eurasia y que sería un antecesor común para poblaciones europeas, siberianas y nativos americanos (103,104). Una radiación desde la región central de Eurasia hacia el sub-continente Indio y en nuestro caso hacia las rutas que iniciaron las migraciones a América, explicaría este modelo relacionado con el origen del haplotipo del cromosoma Y de las poblaciones americanas desde las regiones de Siberia central (79).

Finalmente, el modelo de análisis genético del cromosoma Y permite proponer que la presencia de este haplotipo fundador en gran parte de América, sugiere una migración única y principal que estaría de acuerdo con un modelo de "diferenciación poblacional" de todos los americanos nativos en Beringia como es también propuesto por otros estudios de DNA mitocondrial (105,106).

Los primeros migrantes con un cromosoma Y proto-Caucasoide (haplotipo 10), (68,107) pudieron venir desde Siberia a la región del estrecho de Bering hace aproximadamente 30.000 años. Durante el pleistoceno, la mutación en el locus DYS199, originó el haplotipo 31 en estas poblaciones que se expandieron y luego migraron a Suramérica a través del corredor libre de hielo. El colapso provocado por la masiva migración en este corredor hace unos 20.000 años, aisló a aquellos grupos que aún estaban en Beringia de los que habían migrado hacia a América lo que provocó un efecto fundador en estos últimos, dando lugar a los Amerindios.

En resumen, a pesar de los diferentes estudios genéticos, su interpretación en el poblamiento de América es muy diversa.

5. El descubrimiento de América.

El descubrimiento de América, se llevó a cabo por navegantes españoles a finales del siglo XV cuando viajaban camino de las Indias. Tomaron tierra en la isla de "La Española", actualmente República Dominicana, y a partir de ahí, empezó la conquista de las nuevas tierras descubiertas (11).

La llegada de este grupo de europeos, provocó en los años posteriores un cambio drástico de la población autóctona (Amerindios). Los españoles llevaban consigo enfermedades que los Amerindios no podían combatir ya que no tenían defensas naturales (anticuerpos), ni las moléculas presentadoras HLA, contra enfermedades tales como la malaria, viruela, rubéola y fiebres tifoideas entre otras, desencadenando epidemias severas que diezmaron la población. Además de las enfermedades, la población autóctona también se vio disminuida en menor grado por las luchas, sometimientos, persecuciones, aislamiento, desnutrición, etc (108). Todo esto provocó que la población Amerindia perdiera aproximadamente 80.000.000 de individuos (109) y que sólo subsistiera el 10%.

La nueva constitución genética de la población cambió drásticamente debido a varios factores: a) el "severo cuello de botella" resultante del diezmo de la población; b) la llegada de invasores europeos que se mezclaron con los nativos; c) la llegada también de los africanos que fueron llevados por los españoles y portugueses, principalmente para que trabajaran como esclavos en los campos de Centro y Suramérica lo cual también favoreció el mestizaje con genes africanos (108,110,111).

Como resultado, de esta nueva constitución genética de América, dio muy probablemente lugar a la aparición de nuevos mecanismos de defensas, como serían la generación de nuevos genes híbridos (por ejemplo: nuevos genes HLA), para poder responder a las nuevas enfermedades llevadas desde Europa y África (11).

Finalmente, las poblaciones europeas y africanas han podido introducir enfermedades en América de tipo patológicas (anemia falciforme, talasemias) o autoinmunes como la diabetes de tipo I (no existente previamente en las poblaciones Amerindias) y contribuir al desarrollo de una estructura genética mixta en las poblaciones de América (112).

6. Población Mapuche.

Definición Etimológica: Los mapuches: en mapudungun (idioma Mapuche) mapa (tierra), che (gente) - (gente de la tierra) (113).

Ubicación

A la llegada de los conquistadores españoles en el siglo XVI, habitaban entre el valle del Aconcagua y el archipiélago de Chiloé, en el actual territorio chileno, al sur del río Bío Bío (113). En la actualidad se ubican en una amplia zona comprendida en el suroeste de Chile y Argentina (Figura 6). Viven principalmente en la Araucanía y en pequeños grupos en las regiones de Los Lagos y Los Ríos (114). En Argentina: El 73% de ellas vive en las provincias de Chubut, Neuquén y Río Negro (115).



Figura 6. Territorio Mapuche actual.

Lenguaje, cultura e historia.

A la llegada de los Europeos en el siglo XVI los Mapuches hablaban un solo idioma, el mapudungun, el cual hasta el momento no ha logrado ser relacionado con ningún tronco lingüístico conocido en el continente Americano. Este es un lenguaje rico y complejo, que se ha demostrado que en algunos aspectos es más complejo que los Indoeuropeos, por ejemplo (113,116).

Su presencia generalizada actual en Argentina se debió a que los conquistadores ejercieron sobre ellos una gran presión lo que los llevó a colonizar el otro lado de la cordillera, en la Pampa Argentina (114).

Desde esa época en que se convirtieron en ganaderos, han sufrido una gran cantidad de expropiaciones como la que se les llevó a cabo con la constitución de 1866. Pero esto no solo fue en el siglo XIX, sino que fueron expropiados en la época de Salvador Allende y exacerbado durante la dictadura. En la actualidad han logrado algunas reivindicaciones (114).

Mestizaje

Los Mapuches han sufrido un intenso mestizaje desde los primeros años de la conquista. Primero los europeos raptaban y violaban a las indígenas (como en otros lugares de la conquista) y de ese contacto nacían niños mestizos. Luego los Mapuches, que se adaptaron a la guerra europea, hacían lo mismo con las mujeres blancas, las raptaban y las violaban y de ese intercambio se generaba un alto mestizaje. Fue tan marcado este aspecto, que en algunos casos estas mujeres adoptaban las costumbres y el idioma y no regresaban a la civilización de origen, ya sea porque se adaptaron o porque no querían abandonar a los nuevos hijos (113).

También, durante las cruentas guerras europeas del siglo XX, se produjo una migración de europeos hacia territorio Chileno y Argentino, lo que llevó a contribuir en el aumento del mestizaje (114). Y los estudios con DNA mitocondrial muestran que la población de los archipiélagos del sur de Chile, se segregaron de manera semejante a como lo demuestran los hallazgos arqueológicos, teniendo una población al norte relacionada con la tribu Huilliche y al sur se perciben una derivación poblacional hacia

dos tribus principales los Pehuenche and Mapuche, en concordancia con la colonización de esta zona del país (117).

Este fenómeno se aprecia en los pocos estudios genéticos que se le ha realizado a esta población y que se enmarcan especialmente en estudios del cromosoma Y y el DNA mitocondrial, los cuales muestran que los genes Mapuches del cromosoma Y, son bastante de origen europeo y los de DNA mitocondrial son prominentemente de origen Amerindio (118,119).

En Chile se han realizado estudios sobresalientes en tipaje de HLA de donante y receptores en la población Mapuche, para diferenciar estos de la población chilena no Mapuche. Los receptores Mapuches mostraron frecuencias significativamente altas de HLA A 28, B16, DR4 y DR8, cuando estos se compararon con la población no Mapuche. Como existe una relación de altas frecuencias alélicas con enfermedad renal crónica, asociado a relaciones endogámicas, especialmente caracterizado por una alta aparición de –DR4, lleva a pensar que no se debería descartar esta enfermedad en la población Mapuche por su alta aparición de –DR4 en ellos (120). Que queda demostrado también por la presencia de los alelos DRB1*0403, DRB1*0407, DRB1*0411, DRB1*0417, DRB1*0802, DRB1*0901, DRB1*1402, DRB1*1406 y DRB1*1602, en otra muestra de población Mapuche en Argentina, con la relevancia que también aparecieron alelos no Amerindios en estos Mapuches (121).

7. Estudio del sistema HLA en poblaciones Amerindias.

Diferentes estudios HLA en Amerindios han mostrado resultados sorprendentes que hacen que este grupo de poblaciones sean de especial interés y de gran ayuda para poder comprender con mayor precisión algunos aspectos no aclarados todavía: a) posibles rutas migratorias que han dado origen al poblamiento de América; y b) evolución del polimorfismo de los genes HLA después del contacto con nuevos patógenos, frente a los cuales, su sistema inmunitario fue capaz de responder (a partir del siglo XV) (11).

7.1. Polimorfismo de los genes HLA en Amerindios

Una característica destacada del sistema HLA en Amerindios, es el bajo número de alelos serológicos que hay en los genes HLA de clase I y de clase II (122). El número bajo de alelos presente en los grupos Amerindios, se ha relacionado con la hipótesis que considera a la población de América como originada por un número reducido de población proveniente de Siberia con un número bajo de alelos HLA. A pesar de haber un bajo número de grupos de alelos HLA, en las poblaciones Amerindias, se encuentra una más alta variabilidad alélica especialmente a nivel del locus HLA-B y dentro de éste los grupos B15, B35 y B39 (23,108,123).

Locus HLA-A

A nivel del locus HLA-A, las poblaciones Amerindias comparten un promedio de 3 a 6 alelos definidos serológicamente, siendo los más representativos, HLA-A2, -A9, -A19 y -A28 (11). En la actualidad habría que retiparlos con la metodología actual.

Locus HLA-B

El número de alelos pertenecientes al locus HLA-B, es en promedio 4-8 alelos representados por los grupos serológicos HLA-B 15, -B27, -B35, -B16, -B40, -B48 yB5 (11). En la actualidad habría que retiparlos con la metodología actual. Se ha comprobado que existen muchos más alelos con tipificación genética (5).

Locus HLA-DRB1 y DQB1

El comportamiento de los loci HLA de clase II en Amerindios, es diferente a los pertenecientes a la clase I, ya que existe una variabilidad más alta detectada hoy que en los últimos. Sin embargo algunos alelos como por ejemplo HLA-DRB 1*0407, DRB1*0411 y DRB1*0403 son frecuentes en Amerindios, al igual que los alelos DRB1*0802, DRB1*1402 y DRB1*1602 entre otros, que se consideran verdaderos marcadores de estas poblaciones (124-126).

En general, a este grupo de alelos más frecuentes se les considera como los "alelos fundadores" a partir de los cuales han surgido nuevas variantes alélicas generadas principalmente por eventos de conversión génica. Además, la mayoría de los alelos fundadores en Amerindios, se encuentran en poblaciones asiáticas y euroasiáticas (en baja, y muy baja frecuencia) relacionadas con su origen inicial. Por

otra parte, el aumento del polimorfismo del sistema HLA, es apoyado por el modelo de selección positiva tipo Darwiniano y basado en la exposición a patógenos (127). Este modelo se basa en dos teorías: 1) La selección dominante, propone que la supervivencia reproductiva de un individuo heterocigoto al nivel de los genes MHC, es mayor ya que posibilita la unión de un mayor número de péptidos patogénicos comparado con el individuo homocigoto; 2) La selección dependiente de las frecuencias génicas de los alelos "raros", que estaría condicionada por una ventaja en los individuos que tengan alelos diferentes a aquellos a los que los patógenos han podido adaptarse previamente. En este caso el polimorfismo, sería fluctuante para las frecuencias alélicas favoreciendo el recambio de los alelos viejos cuando hayan perdido su resistencia a patógenos (128).

7.2. Estudios genéticos HLA en las poblaciones Amerindias

Los Amerindios mayoritariamente viven en Centro y Suramérica, donde además, también hay otras poblaciones, más numerosas, como las mestizas (mezcladas con europeos) y las negras (mezcladas con poblaciones negroides de África). Este fenómeno es importante, porque en una misma área, pueden vivir grupos con diferencias genéticas relacionadas a su vez con patologías específicas, así como, con diferentes modelos de respuesta a enfermedades infecciosas y/o enfermedades autoinmunes. El conocimiento de las características genéticas de cada uno de ellos, es importante porque permite delinear el posible comportamiento de cada grupo con relación a algunas enfermedades y a su vez, el desarrollo de programas de medicina

preventiva y protocolos de screening para la detección precoz de patologías que requieren un manejo temprano, así como farmacogenómico (129-131).

Los estudios serológicos y también genéticos HLA realizados en distintos grupos étnicos, han dado resultados parecidos: a) son grupos poco polimórficos, hay pocas variantes alélicas en cada grupo poblacional; b) estas variantes, presentan frecuencias muy elevadas, llegando hasta más del 50% en muchas poblaciones para ciertos alelos; c) los alelos presentes en alta frecuencia, no lo están en otros grupos poblacionales del resto del mundo, donde ni tan siquiera existen estos alelos; d) algunos haplotipos HLA extendidos encontrados en los Amerindios, son comunes a otras poblaciones Amerindias y no a poblaciones de otras regiones (11).

Por otro lado, existen poblaciones Amerindias más cercanas genéticamente que a otras a pesar de no estar geográficamente cercanas, por ejemplo, el grupo étnico Mazateco (México), a la vista de sus frecuencias alélicas HLA se encuentra genéticamente más cercano a la población de Xavantes (Brasil) que a poblaciones más cercanas geográficamente y perteneciente al mismo grupo lingüístico como son los vecinos Zapotecos de México (67).

Los grupos mestizos de América han sido menos estudiados en comparación con las poblaciones nativas. En esta comparación se observó que los grupos serológicos HLA eran compartidos por los dos grupos poblacionales, pero no compartían los mismos alelos. Los Amerindios portaban los alelos: HLA-DRB1 *0407, DRB1 *0403 y DRB1 *0411, mientras que los mestizos portaban los siguientes:

DRB1*1401, DRB1*0701, DRB1*0404 y DRB1*0801 como los más característicos de estas poblaciones (110).

OBJETIVOS

La antigua cultura Mapuche (Araucanos), junto con las otras culturas existentes en Norte y Sudamérica, puede ser una de las bases para poder conocer el origen del poblamiento de América. Asimismo, el estudio de los alelos HLA en poblaciones Amerindias nos permite obtener una lista virtual de trasplante de las mismas y tener un perfil HLA para farmacogenómica y para terapéutica. Para ello nos hemos propuesto:

1. Recoger muestras de una comunidad Mapuche de Chile (Peleco, Cañete, Región de Bío bío).
2. La caracterización del polimorfismo de los genes HLA de clase I (A y B) y de clase II (DRB1 y DQB1).
3. Calcular las distancias genéticas existentes entre el grupo Mapuche y otras poblaciones Amerindias y del resto del mundo, a partir de las frecuencias alélicas de los loci HLA de clase II (genotipadas en alta resolución)
4. Construir árboles de emparentamiento (dendrogramas) por el método de Neighbor-Joining , a partir de las distancias genéticas con el fin de determinar el grado de similitud entre las distintas poblaciones Amerindias y otras del mundo.
5. Realizar los análisis de correspondencia HLA entre las poblaciones para completar los análisis de emparentamiento realizados con los dendrogramas.

6. Estimar las frecuencias y desequilibrios de ligamiento de los haplotipos de dos loci HLA-A-B, HLA-B-DRB1 y HLA-DRB1-DQB1, así como los haplotipos extendidos HLA-A-B-DRB1-DQB1 característicos de la población Mapuche y compararlos con otras poblaciones, principalmente de Centro y Sudamérica.
7. Proponer la asignación de estos haplotipos según la procedencia geográfica.
8. Discutir las relaciones genéticas HLA entre las poblaciones Amerindias y del resto del mundo mediante la comparación de los alelos y haplotipos.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Población estudiada.

104 individuos sanos no relacionados pertenecientes a la etnia Mapuche fueron tipados para HLA clase I y clase II. Las muestras fueron recolectadas desde un grupo de habitante Mapuches voluntarios del área rural de Chile, en la población de Paleco en la ciudad de Cañete (800 km al sur de Santiago). Cada individuo nació en Chile en el área rural y la mayoría de ellos presentaron alelos típicos Amerindios. Nosotros comparamos nuestros datos con esos de poblaciones de Europeos Caucásicos, Siberianos, Orientales, Na-Dene, Eskimos y Amerindios (132,133), obteniendo las distancias genéticas correspondientes, y relacionando poblaciones con análisis de correspondencia y dendogramas.

2. Selección de Individuos

Fueron seleccionados ciento cuatro individuos sanos no relacionados para los tirajes de HLA, provenientes del área rural chilena y perteneciente a la etnia Mapuche. Ellos donaron su sangre para este estudio de manera voluntaria. Otras sesenta y dos poblaciones fueron incluidas en el análisis y son detalladas en la Tabla 2; estas poblaciones provienen de diferentes partes de mundo y de diferentes localizaciones geográficas (Sur, Centro y Sur América, Mediterráneos, Este de Asia, Australia e Islas Pacíficas) y pertenecen a diferentes grupos étnicos (Amerindios, Na-Dene, Eskimos, Caucásicos, Orientales, aborígenes Australianos, Polinesios, Melanesios, y Micronesios). En total, 12924 cromosomas fueron comparados. El grupo de Amerindios incluye tribus desde las siguientes familias lingüísticas: Macro-Mixteco

(Mixtecas y Zapatecas), Macro-Maya (Mixe), Macro-Yuna (Seris), Chibcha (Armario, Kogi, Arhuaco and Cayapa), Arawak (Wayu), Ge Pano Caribe (Xavantes, Mataco y Toba) y otros, como los Aymarás y Quechuas (132,133).

Tabla 2. Poblaciones Incluidas en el análisis. Amerindios y del resto del Mundo. Fueron analizados un total de 12924 cromosomas. N= número de individuos por población

Población	N	Referencia	Población	N	Referencia
Alemanes	295	(25)	Libano-NS	59	(26)
Argelinos	102	(28)	Macedonios	172	(134)
Arhuacos	123	(125)	Manchues	50	(135)
Arsarios	20	(125)	Mapuches	104	Presente Estudio
Atabascos	124	(136)	Mataco-Wichi	49	(124)
Aymaras	102	(137)	Mayas	132	(138)
Bereberes	98	(139)	Mayos	60	(140)
Buyi	70	(25)	Mazatecos	89	(67)
Cayapas	100	(141)	Mixes	55	(110)
Chinos de Singapur	71	(25)	Mixtecos	103	(110)
Chukchi	59	(142)	Mongoles-Khalk	202	(143)
Chuvacios	82	(144)	Mongoles-Khoton	85	(143)
Coreanos	100	(25)	Nahuas	85	(145)
Cretenses	135	(146)	Nivkhs	32	(142)
Daneses	124	(25)	Quechuas	80	(147)
Eskimos	35	(142)	Rusos	200	(148)
Españoles	176	(23)	Sardos	91	(25)
Evenks	35	(142)	Seri	100	(110)
Franceses	179	(25)	Sioux-Lakota	302	(149)
Guaraníes	32	(110)	Tarahumaras	44	(150)
Italianos	284	(25)	Terenas	60	(151)
Jaidukamas	39	(152)	Tlingit	53	(25)
Japoneses	493	(25)	Toba-Este	135	(124)
JudíosAshkenazi	80	(153)	Toba-Pilaga	19	(124)
JudíosMarroquies	94	(154)	Tuvinianos	197	(155)
JudíosNoAshkenazi	80	(153)	Udegeys	23	(142)
Kets	22	(142)	Uros	105	(156)
Kogis	67	(125)	Vascos Españoles	80	(23)
Koryaks	92	(142)	Wayu	58	(157)
Lamas	83	(158)	Xavantes	74	(124)
Libano-KZ	93	(26)	Zapoteco	75	(110)

3. Extracción de DNA y Genotipificación de HLA

El DNA fue obtenido siguiendo el método estándar de fenol cloroformo (159). Las muestras que se han procesado para este trabajo contaban con un volumen máximo de unos 2 ml de sangre, de forma que se optó por emplear un método de extracción de DNA automático (en vez de manual) para garantizar el mayor rendimiento posible con el mínimo gasto de muestra. El proceso se desarrolla en un extractor automático (*Nucleic Acid Extraction System, QuickGene-810*, FUJIFILM) después de someter las muestras a un tratamiento previo con un kit comercial (*QuickGene Whole Blood Extraction Kit S*, FUJIFILM) indicado para la extracción de DNA a partir de sangre total (34). El proceso de extracción consiste en:

- Diluir 100 µl de sangre en 100 µl de solución salina (*PBS pH 7.4*, GIBCO) en un tubo de 1.5 ml.
- Añadir 30 µl de proteasa (*DNA whole blood Protease EDB-01*, FUJIFILM).
- Añadir 250 µl de solución de lisis (*DNA whole blood Lysis Buffer LDB-04*, FUJIFILM). Mezclar bien.
- Incubar en un baño a 56°C hasta que desaparezcan los posibles coágulos (2-10 min).
- Añadir 250 µl de etanol absoluto. Mezclar bien.
- Pasar la muestra a una columna del kit e introducirla en el extractor automático, donde será sometida a 3 ciclos de lavado (*DNA whole blood Wash Buffer WDB-03*, FUJIFILM) y posteriormente será eluída en 200 µl de una solución de elución (*DNA whole blood Elution Buffer CDB-02*, FUJIFILM) (34).

En la mayoría de los casos, la adición de etanol absoluto provoca la aglutinación del DNA (formándose la denominada “medusa”, que se observa a simple vista). En estos casos hay que retirar la medusa antes de pasar la muestra a la columna, ya que quedaría retenida en la membrana y se perdería. La medusa debe, por tanto, ser procesada manualmente sometiéndola a un lavado con etanol absoluto (Ethanol Absolute PRS - CH₃CH₂OH, PANREAC) y otro con etanol 70% (Ethanol 70% v/v BP CODEX - CH₃CH₂OH, PANREAC). Finalmente, tras eliminar completamente los restos de etanol, se añaden 200 µl de agua destilada o bien de la solución de elución (DNA whole blood Elution Buffer CDB-02, FUJIFILM) suministrada con el kit de extracción (34).

La concentración de cada muestra de DNA resultante fue medida en un espectro fotómetro (Spectrophotometer ND-J000, NANODROP), y de cada una de ellas se extrajo una alícuota que fue ajustada a una concentración de 100-200 ng/µl (como estándar de trabajo) mediante la adición de agua destilada cuando requería ser diluida o mediante evaporación en estufa a 60°C cuando requería ser concentrada. Tanto las muestras originales como las alícuotas fueron conservadas a -20°C (34).

Se identificaron los alelos HLA clase I (A y B) y HLA clase II (DRB1 y DQB1) usando una técnica de reacción de polimerasa en cadena secuencia específica de oligobucleótidos Luminex (PCR-SSO-Luminex) (160), utilizando el Kit de HLA Tepnell-Lifecode (Bélgica). Cuando se obtuvieron resultados ambiguos, los DNA fueron secuenciados (161).

Los HLA clase I (A y B) y los HLA clase II de alta resolución (DRB1 y DQB1) fueron hechos por la técnica PCR-SSOP-Luminex (160). Esta metodología consiste en: a) PCR usando un par de primers específicos aportados por el manufacturero (Luminex Corporation, Austin, TX, USA). Todos los primer son biotinilados en el extremo 5' y son específicos para determinar secuencias de los exones 2 y 3 de los genes HLA (o solamente el exón 2 para la HLA-II); b) hibridación: los productos de PCR biotinilados fueron desnaturalizados a 97°C y luego fueron capaces de hibridar con sondas de DNA complementario asociadas a microesferas; y c) asignación de alelos HLA: el resultado completo de la hibridación se introdujo en la plataforma Luminex, este sistema identifica la intensidad de fluorescencia de los fluoróforos en cada una de las oligoesferas que han hibridizado con el producto de PCR biotinilado. El Software del Luminex asigna los alelos HLA para cada una de las muestras de DNA (160). Los alelos de DNA de HLA-A, -B, -DRB1 y -DQB1 fueron secuenciados automáticamente (ABI PRISM 3700/ ABI PRISM 3730. Applied Biosystems; California) solamente cuando la tipificación mostraba resultados ambiguos Tabla 3 (161).

Tabla 3. Tipajes HLA de las muestras en la población Mapuche estudiada.

Número de Muestra	Alelo	HLA-A	HLA-B	HLA-DRB1	HLA-DQB1
1	Alelo 1	A*68:01	ND	DRB1*01:03	DQB1*05:01
	Alelo 2	A*68:01	ND	DRB1*11:01	DQB1*03:01
2	Alelo 1	ND	ND	DRB1*04:03	ND
	Alelo 2	ND	ND	DRB1*11:01	ND
3	Alelo 1	ND	ND	DRB1*07:01	DQB1*02:01
	Alelo 2	ND	ND	DRB1*08:02	DQB1*04:02
4	Alelo 1	ND	ND	DRB1*11:02	DQB1*03:01
	Alelo 2	ND	ND	DRB1*16:02	DQB1*03:01
5	Alelo 1	ND	B*15:01	DRB1*08:02	DQB1*03:03
	Alelo 2	ND	B*35:04	DRB1*09:01	DQB1*04:02
6	Alelo 1	A*33:01	B*39:01	DRB1*04:03	DQB1*03:02
	Alelo 2	A*68:01	B*39:01	DRB1*08:02	DQB1*04:02
7	Alelo 1	A*02:01	ND	DRB1*08:02	DQB1*03:01
	Alelo 2	A*03:01	ND	DRB1*14:02	DQB1*04:02
8	Alelo 1	ND	ND	DRB1*14:02	DQB1*03:01
	Alelo 2	ND	ND	DRB1*14:02	DQB1*03:01
9	Alelo 1	ND	ND	ND	DQB1*03:01
	Alelo 2	ND	ND	DRB1*16:02	DQB1*03:01
10	Alelo 1	ND	ND	DRB1*08:02	DQB1*03:01
	Alelo 2	ND	ND	DRB1*14:02	DQB1*04:02
11	Alelo 1	A*02:01	ND	DRB1*03:01	DQB1*02:01
	Alelo 2	A*68:01	ND	DRB1*04:03	DQB1*03:02
12	Alelo 1	A*68:01	ND	DRB1*13:02	DQB1*03:01
	Alelo 2	A*68:01	ND	DRB1*16:02	DQB1*06:09
13	Alelo 1	A*02:01	ND	DRB1*07:01	DQB1*02:01
	Alelo 2	A*03:01	ND	DRB1*11:01	DQB1*03:01
14	Alelo 1	A*02:01	B*44:02	DRB1*04:03	DQB1*03:02
	Alelo 2	A*02:01	B*57:01	DRB1*13:01	DQB1*06:03
15	Alelo 1	ND	ND	ND	DQB1*03:01
	Alelo 2	ND	ND	ND	DQB1*03:01
16	Alelo 1	ND	ND	ND	DQB1*03:01
	Alelo 2	ND	ND	ND	DQB1*03:02
17	Alelo 1	ND	ND	DRB1*04:03	DQB1*03:02
	Alelo 2	ND	ND	ND	DQB1*03:02
18	Alelo 1	ND	ND	DRB1*07:01	DQB1*02:01
	Alelo 2	ND	ND	ND	DQB1*03:01
19	Alelo 1	A*24:02	B*35:01	DRB1*04:03	DQB1*03:02
	Alelo 2	A*68:01	B*35:20	ND	DQB1*03:02
20	Alelo 1	A*03:01	B*35:04	ND	DQB1*03:01
	Alelo 2	A*68:01	B*51:01	DRB1*14:02	DQB1*03:02
21	Alelo 1	A*68:01	B*15:01	ND	DQB1*03:01
	Alelo 2	A*68:01	B*39:01	DRB1*14:02	DQB1*03:02
22	Alelo 1	A*02:01	B*35:01	DRB1*04:03	DQB1*03:01
	Alelo 2	A*02:01	B*35:03	DRB1*11:01	DQB1*03:02
23	Alelo 1	A*01:01	B*39:06	DRB1*04:03	DQB1*03:02
	Alelo 2	A*01:01	B*51:01	ND	DQB1*03:02
24	Alelo 1	A*29:01	B*39:09	ND	DQB1*03:01
	Alelo 2	A*68:16	B*39:09	DRB1*16:02	DQB1*03:01
25	Alelo 1	A*02:01	B*38:01	ND	DQB1*03:01
	Alelo 2	A*26:01	B*39:01	ND	DQB1*06:09

ND= No determinado

Continuación Tabla 3...

Número de Muestra	Alelo	HLA-A	HLA-B	HLA-DRB1	HLA-DQB1
26	Alelo 1	A*02:01	B*08:01	DRB1*07:01	DQB1*03:03
	Alelo 2	A*23:01	B*57:01	DRB1*15:01	DQB1*06:02
27	Alelo 1	A*02:01	B*35:04	DRB1*08:02	DQB1*03:01
	Alelo 2	A*68:01	B*39:09	DRB1*16:02	DQB1*04:02
28	Alelo 1	A*02:01	B*08:01	DRB1*03:01	DQB1*02:01
	Alelo 2	A*31:01	B*39:03	DRB1*14:02	DQB1*03:01
29	Alelo 1	A*01:01	B*27:05	DRB1*08:02	DQB1*03:01
	Alelo 2	A*68:23	B*51:01	DRB1*11:01	DQB1*04:02
30	Alelo 1	A*31:01	ND	DRB1*11:01	DQB1*03:01
	Alelo 2	A*68:01	ND	DRB1*16:02	DQB1*03:01
31	Alelo 1	ND	B*39:09	DRB1*04:03	DQB1*02:01
	Alelo 2	ND	B*50:01	DRB1*07:01	DQB1*03:02
32	Alelo 1	A*02:01	ND	DRB1*09:01	DQB1*03:03
	Alelo 1	A*68:01	ND	DRB1*14:01	DQB1*05:03
33	Alelo 2	A*68:01	B*39:14	DRB1*07:01	DQB1*02:01
	Alelo 1	A*68:01	B*44:03	DRB1*14:02	DQB1*03:01
34	Alelo 2	A*02:01	B*15:01	DRB1*04:03	DQB1*03:02
	Alelo 1	A*68:01	B*35:04	ND	DQB1*03:02
35	Alelo 2	A*02:01	B*39:09	DRB1*08:02	DQB1*03:01
	Alelo 1	A*68:01	B*39:09	DRB1*16:02	DQB1*04:02
36	Alelo 2	A*03:01	B*07:02	DRB1*15:01	DQB1*06:02
	Alelo 1	A*03:01	B*07:02	DRB1*15:01	DQB1*06:02
37	Alelo 2	A*31:01	B*15:08	DRB1*08:02	DQB1*03:01
	Alelo 1	A*68:01	B*39:01	DRB1*14:02	DQB1*04:02
38	Alelo 2	A*02:01	B*39:09	ND	DQB1*03:01
	Alelo 1	A*68:01	B*39:09	ND	DQB1*03:02
39	Alelo 2	A*11:01	B*08:01	DRB1*03:01	DQB1*02:01
	Alelo 1	A*30:02	B*35:01	DRB1*13:02	DQB1*06:09
40	Alelo 1	A*02:01	B*51:01	DRB1*07:01	DQB1*03:03
	Alelo 2	A*03:01	B*57:01	DRB1*08:02	DQB1*04:02
41	Alelo 1	A*02:01	ND	DRB1*04:03	DQB1*03:02
	Alelo 2	A*68:01	ND	DRB1*09:01	DQB1*03:03
42	Alelo 1	A*02:01	B*39:06	ND	DQB1*03:02
	Alelo 2	A*68:01	B*51:01	ND	DQB1*04:02
43	Alelo 1	A*02:05	B*07:02	ND	DQB1*03:02
	Alelo 2	A*03:01	B*58:01	ND	DQB1*06:02
44	Alelo 1	A*01:01	ND	DRB1*03:01	DQB1*02:01
	Alelo 2	A*68:01	ND	DRB1*04:03	DQB1*03:02
45	Alelo 1	A*01:01	B*08:01	DRB1*03:01	DQB1*02:01
	Alelo 2	A*02:01	B*39:03	DRB1*15:01	DQB1*03:01
46	Alelo 1	A*01:01	ND	DRB1*07:01	DQB1*03:01
	Alelo 2	A*03:01	ND	DRB1*11:04	DQB1*03:03
47	Alelo 1	A*02:01	ND	DRB1*08:02	DQB1*03:01
	Alelo 2	A*31:01	ND	DRB1*14:02	DQB1*04:02
48	Alelo 1	A*02:01	B*39:09	DRB1*04:03	DQB1*03:02
	Alelo 2	A*68:01	B*39:09	DRB1*08:02	DQB1*04:02
49	Alelo 1	A*02:01	B*15:01	ND	DQB1*03:02
	Alelo 2	A*02:05	B*58:01	DRB1*04:03	DQB1*03:02
50	Alelo 1	A*02:01	B*08:01	DRB1*03:01	DQB1*02:01
	Alelo 2	A*32:01	B*15:01	DRB1*04:03	DQB1*03:02

ND= No determinado

Continuación Tabla 3...

Número de Muestra	Alelo	HLA-A	HLA-B	HLA-DRB1	HLA-DQB1
51	Alelo 1	A*02:01	B*39:09	DRB1*04:03	DQB1*03:02
	Alelo 2	A*68:01	B*39:09	ND	DQB1*03:02
52	Alelo 1	A*68:01	ND	ND	DQB1*03:02
	Alelo 2	A*68:01	ND	ND	DQB1*03:02
53	Alelo 1	A*02:01	B*39:09	ND	DQB1*03:01
	Alelo 2	A*31:01	B*39:09	DRB1*14:02	DQB1*03:02
54	Alelo 1	A*02:01	ND	ND	DQB1*03:01
	Alelo 2	A*68:01	ND	DRB1*14:02	DQB1*03:02
55	Alelo 1	A*68:01	B*35:04	DRB1*14:02	DQB1*03:01
	Alelo 1	A*68:01	B*39:09	DRB1*16:02	DQB1*03:01
56	Alelo 2	A*01:01	B*07:02	DRB1*11:04	DQB1*03:01
	Alelo 1	A*03:01	B*38:01	ND	DQB1*06:02
57	Alelo 2	A*02:01	B*39:03	ND	DQB1*03:02
	Alelo 1	A*68:01	B*40:02	ND	DQB1*03:02
58	Alelo 2	A*03:01	B*07:02	DRB1*14:02	DQB1*03:01
	Alelo 1	A*68:01	B*39:01	ND	DQB1*06:02
59	Alelo 2	A*02:01	B*07:02	DRB1*01:01	DQB1*05:01
	Alelo 1	A*03:01	B*07:02	DRB1*15:01	DQB1*06:02
60	Alelo 2	A*02:01	ND	DRB1*03:01	DQB1*02:01
	Alelo 1	A*24:02	ND	DRB1*14:02	DQB1*03:01
61	Alelo 2	A*68:01	B*39:09	DRB1*08:02	DQB1*03:01
	Alelo 1	A*68:01	B*39:09	DRB1*14:02	DQB1*04:02
62	Alelo 2	A*02:01	B*51:02	DRB1*04:03	DQB1*03:01
	Alelo 1	A*68:01	B*78:02	DRB1*14:02	DQB1*03:02
63	Alelo 1	A*31:01	B*27:05	DRB1*14:02	DQB1*03:01
	Alelo 2	A*31:01	B*35:01	DRB1*14:02	DQB1*03:01
64	Alelo 1	A*24:02	B*39:01	DRB1*01:01	DQB1*03:02
	Alelo 2	A*68:01	B*48:01	DRB1*04:03	DQB1*05:01
65	Alelo 1	ND	B*35:01	DRB1*04:03	DQB1*03:02
	Alelo 2	A*68:01	B*35:04	DRB1*04:03	DQB1*03:02
66	Alelo 1	A*33:01	B*35:01	DRB1*04:03	DQB1*03:02
	Alelo 2	A*68:01	B*14:01	DRB1*07:01	DQB1*02:01
67	Alelo 1	A*31:01	B*51:01	DRB1*04:03	DQB1*03:02
	Alelo 2	A*68:01	B*58:01	DRB1*13:02	DQB1*06:09
68	Alelo 1	A*68:01	B*51:01	DRB1*04:03	DQB1*03:02
	Alelo 2	A*68:01	B*51:01	DRB1*04:03	DQB1*03:02
69	Alelo 1	A*68:01	ND	DRB1*08:02	DQB1*03:01
	Alelo 2	A*68:01	ND	DRB1*14:02	DQB1*04:02
70	Alelo 1	A*31:01	ND	DRB1*07:01	DQB1*03:01
	Alelo 2	A*68:01	ND	DRB1*14:02	DQB1*03:03
71	Alelo 1	A*11:01	ND	DRB1*01:01	DQB1*03:02
	Alelo 1	A*31:01	ND	DRB1*04:03	DQB1*05:01
72	Alelo 2	A*03:01	ND	DRB1*04:03	DQB1*03:02
	Alelo 1	A*68:01	ND	DRB1*15:01	DQB1*06:02
73	Alelo 2	A*02:01	B*07:02	DRB1*15:01	DQB1*03:01
	Alelo 1	A*03:01	B*39:06	DRB1*16:02	DQB1*06:02
74	Alelo 2	A*02:01	B*39:06	DRB1*04:03	DQB1*03:01
	Alelo 1	A*68:01	B*52:01	DRB1*14:02	DQB1*03:02
75	Alelo 2	A*02:01	B*39:09	DRB1*07:01	DQB1*03:01
	Alelo 1	A*31:01	B*39:09	DRB1*16:02	DQB1*03:03

ND= No determinado

Continuación Tabla 3...

Número de Muestra	Alelo	HLA-A	HLA-B	HLA-DRB1	HLA-DQB1
76	Alelo 2	A*33:01	B*14:02	DRB1*07:01	DQB1*03:03
	Alelo 1	A*68:01	B*39:09	DRB1*08:02	DQB1*04:02
77	Alelo 2	A*68:01	B*44:03	DRB1*04:03	DQB1*03:02
	Alelo 1	A*80:01	B*51:01	DRB1*13:02	DQB1*06:09
78	Alelo 2	A*10:10	B*39:09	DRB1*04:03	DQB1*03:02
	Alelo 1	A*68:01	B*57:03	DRB1*07:01	DQB1*03:03
79	Alelo 2	A*68:01	B*39:09	DRB1*08:02	DQB1*03:01
	Alelo 1	A*68:01	B*39:09	DRB1*14:02	DQB1*04:02
80	Alelo 2	A*29:01	B*08:01	DRB1*03:01	DQB1*02:01
	Alelo 1	A*68:01	B*35:04	DRB1*14:02	DQB1*03:01
81	Alelo 2	A*29:01	B*08:01	DRB1*03:01	DQB1*02:01
	Alelo 1	A*68:01	B*35:04	DRB1*14:02	DQB1*03:01
82	Alelo 2	A*02:01	B*14:02	DRB1*07:01	DQB1*03:01
	Alelo 1	A*33:01	B*57:03	DRB1*11:03	DQB1*03:03
83	Alelo 2	A*25:01	B*35:04	DRB1*04:04	DQB1*03:01
	Alelo 1	A*68:16	B*44:02	DRB1*14:02	DQB1*03:02
84	Alelo 2	A*02:01	B*14:02	DRB1*07:01	DQB1*03:03
	Alelo 1	A*68:01	B*39:09	DRB1*08:02	DQB1*04:02
85	Alelo 2	A*01:01	B*39:09	DRB1*07:01	DQB1*03:01
	Alelo 1	A*68:01	B*57:01	DRB1*16:02	DQB1*03:03
86	Alelo 2	A*01:01	ND	DRB1*07:01	DQB1*03:03
	Alelo 1	A*33:01	ND	DRB1*07:01	DQB1*03:03
87	Alelo 2	A*02:01	B*35:01	DRB1*07:01	DQB1*03:01
	Alelo 1	A*03:01	B*57:03	DRB1*14:02	DQB1*03:03
88	Alelo 2	A*68:01	ND	DRB1*14:02	DQB1*03:01
	Alelo 1	A*68:01	ND	DRB1*04:03	DQB1*03:02
89	Alelo 2	A*02:01	B*39:09	DRB1*08:02	DQB1*03:01
	Alelo 1	A*68:01	B*39:09	DRB1*14:02	DQB1*04:02
90	Alelo 2	A*24:02	B*15:03	DRB1*13:02	DQB1*03:01
	Alelo 1	A*32:01	B*39:01	DRB1*16:02	DQB1*06:04
91	Alelo 2	A*02:01	ND	DRB1*04:07	DQB1*03:02
	Alelo 1	A*24:02	ND	DRB1*10:01	DQB1*05:01
92	Alelo 2	A*03:01	B*27:05	ND	DQB1*03:01
	Alelo 1	A*31:01	B*35:01	DRB1*14:02	DQB1*03:02
93	Alelo 2	A*03:01	B*08:01	DRB1*03:02	DQB1*02:01
	Alelo 1	A*11:01	B*27:05	DRB1*04:03	DQB1*03:02
94	Alelo 2	A*68:01	B*51:01	DRB1*04:03	DQB1*03:02
	Alelo 1	A*68:01	B*51:01	ND	DQB1*03:02
95	Alelo 2	A*02:01	B*40:09	DRB1*08:02	DQB1*03:01
	Alelo 1	A*68:01	B*57:03	DRB1*11:03	DQB1*04:02
96	Alelo 2	A*29:01	B*44:03	DRB1*04:07	DQB1*03:01
	Alelo 1	A*68:01	B*51:01	DRB1*11:01	DQB1*03:02
97	Alelo 2	A*68:01	B*35:20	DRB1*04:07	DQB1*03:02
	Alelo 1	A*68:01	B*35:20	DRB1*04:07	DQB1*03:02
98	Alelo 2	A*02:01	ND	DRB1*04:07	DQB1*02:01
	Alelo 1	A*68:01	ND	DRB1*03:01	DQB1*03:02
99	Alelo 2	A*29:01	B*08:01	DRB1*03:01	DQB1*02:01
	Alelo 1	A*68:16	B*39:03	DRB1*04:07	DQB1*03:02
100	Alelo 2	A*29:01	B*08:01	DRB1*04:04	DQB1*02:01
	Alelo 1	A*68:01	B*15:01	DRB1*03:01	DQB1*03:02

ND= No determinado

Continuación Tabla 3...

Número de Muestra	Alelo	HLA-A	HLA-B	HLA-DRB1	HLA-DQB1
101	Alelo 2	A*02:02	B*39:09	DRB1*15:01	DQB1*03:01
	Alelo 1	A*68:01	B*58:01	ND	DQB1*06:02
102	Alelo 2	A*02:01	B*14:02	DRB1*07:01	DQB1*03:01
	Alelo 1	A*33:01	B*39:09	DRB1*14:02	DQB1*03:03
103	Alelo 2	A*02:01	B*39:01	DRB1*08:02	DQB1*03:01
	Alelo 1	A*24:02	B*39:01	DRB1*16:02	DQB1*04:02
104	Alelo 2	A*01:01	B*38:01	DRB1*11:01	DQB1*03:01
	Alelo 1	A*68:01	B*48:01	DRB1*14:06	DQB1*03:01

ND= No determinado

4. Análisis estadístico

El análisis estadístico fue hecho con el software ARLEQUIN v2.0 proveído gentilmente por Excoffier and Slatkin (162). En resumen, este programa calcula las frecuencias alélicas de HLA-A, -B, -DRB1 y DQB1, equilibrio de Hardy-Weinberg y linkage disequilibrium (desequilibrio de ligamiento) entre dos alelos en dos diferentes loci.

Su grado de significancia (p) por comparación 2x2 se determinó como se ha descrito anteriormente (24,163). Adicionalmente, los haplotipos completos más frecuentes fueron deducidos desde: 1) las frecuencias de haplotipos de los loci 2, 3 y 4 (24,163); 2) los haplotipos descritos anteriormente en otras poblaciones (24,163); y 3) fueron bien definidos los haplotipos y el haplotipo alternativo si se presentaban en dos o más individuos (24,163). Para comparar los fenotipos y haplotipos de las frecuencias HLA con otras poblaciones, se usaron las tablas de referencia del 11º y 12º Workshop Internacional de HLA (25,26). Los árboles filogenéticos (dendogramas) se construyeron con las frecuencias alélicas utilizando el método del Neighbour-Joining (NJ) (164), con las distancias genéticas entre poblaciones (DA) (165), utilizando el software DISPAN que comprende los programas GINKDST y TREEVIEW (166,167). El análisis de correspondencia en tres dimensiones y su representación bidimensional se hicieron

con programa de computador VISTA v5.05 ((168), <http://forrest.psych.unc.edu>). El análisis de correspondencia consiste de una técnica geométrica que puede ser usada para mostrar una visión global de las relaciones entre poblaciones de acuerdo con las frecuencias alélicas de HLA (u otro gen). Esta metodología se basa en la varianza de las frecuencias alélicas entre poblaciones (similar a los componentes clásicos de la metodología) y de una visualización estadística de las diferencias.

RESULTADOS

Tipaje de los Alelos HLA en la Población Mapuche

Se han obtenido los tipajes de los alelos HLA por técnicas de genética molecular en una muestra poblacional de 104 individuos sanos no relacionados. Estos fueron escogidos del área rural de Chile.

1. Frecuencias características de alelos HLA encontradas en la población de Mapuches

Los valores esperados y observados de las frecuencias genéticas para los loci de HLA-A, -B, -DRB1 y -DQB1 no difieren significativamente y la población se encuentra en Equilibrio Hardy-Weberg. La Tabla 4 muestra las frecuencias de los alelos HLA encontrados en las muestras de la población Mapuche. Para todos los alelos fueron tipados 104 individuos para cada uno de ellos se encontraron 20 alelos diferentes de HLA-A, 31 HLA-B, 22 de HLA-DRB1 y 11 HLA-DQB1, de esos alelos solo cinco alelos HLA-A, cinco HLA-B, seis HLA-DRB1 y cinco HLA-DQB1 tuvieron frecuencias por encima del 4% (A*68:01 (32,2%), A*02:01 (20,19%), A*03:01 (7,69%), A*31:01 (5,77%), A*01:01 (4,81%), B*39:09 (13,94%), B*51:01 (5,77%), B*08:01 (4,81%), B*39:01 (4,81%), B*35:04 (4,32%), DRB1*04:03 (31,73%), DRB1*14:02 (14,9%), DRB1*07:01 (9,62%), DRB1*08:02 (9,62%), DRB1*16:02 (6,25%), DRB1*03:01 (5,77%), DQB1*03:01 (33,17%), DQB1*03:02 (28,36%), DQB1*04:02 (10,1%), DQB1*02:01 (9,13%), DQB1*06:02 (4,81%)). La suma de las frecuencias de los 6 primeros alelos en la Tabla 4 de la HLA-A es mayor de 0,7, la de los 5 primeros de HLA-B es mayor de 0,3, la de los

primeros 6 de HLA-DRB1 es mayor de 0,7 y la de los primeros 5 de HLA-DQB1 es mayor de 0,8. Muchos de los alelos ya habían sido encontrados en Amerindios. Las frecuencias alélicas de DQB1 reflejan la distribución del locus DRB1 debido a un fuerte equilibrio de ligamiento entre esos loci. Los dendogramas Neighbour-Joining y análisis de correspondencia fueron realizados para comparar con frecuencias de poblaciones Amerindias y del Mundo. Se hicieron dos tipos de análisis para comparar las frecuencias HLA de los Mapuches con otras poblaciones Amerindias y del Mundo. 1) Primero se agruparon los datos de A y B y de DRB1 y DQB1 Tablas 6 y 7 donde se observa la misma tendencia que con DRB1 y 2) con los datos DRB1 solos. No fue posible llevar a cabo un estudio de comparación de frecuencias alélicas de HLA-I, ni de los alelos HLA-I y HLA-II conjuntamente, debido a que en la HLA-I existen pocos estudios en poblaciones del mundo.

Tabla 4. Frecuencias alélicas (x100) de HLA-A, -B, -DRB1 y -DQB1 en Mapuches

Alelos HLA-A	%	Alelos HLA-B	%	Alelos HLA-DRB1	%	Alelos HLA-DQB1	%
A*68:01	32,212	B*39:09	13,942	DRB1*04:03	31,729	DQB1*03:01	33,172
A*02:01	20,192	B*51:01	5,769	DRB1*14:02	14,904	DQB1*03:02	28,365
A*03:01	7,692	B*08:01	4,808	DRB1*07:01	9,615	DQB1*04:02	10,096
A*31:01	5,769	B*39:01	4,808	DRB1*08:02	9,615	DQB1*02:01	9,135
A*01:01	4,808	B*35:04	4,327	DRB1*16:02	6,25	DQB1*06:02	4,808
A*24:02	2,885	B*07:02	3,846	DRB1*03:01	5,769	DQB1*06:09	2,404
A*29:01	2,885	B*35:01	3,846	DRB1*11:01	3,846	DQB1*05:01	2,404
A*33:01	2,885	B*15:01	2,885	DRB1*15:01	3,846	DQB1*03:03	8,173
A*11:01	1,442	B*14:02	1,923	DRB1*04:07	2,885	DQB1*05:03	0,481
A*68:16	1,442	B*27:05	1,923	DRB1*13:02	2,404	DQB1*06:03	0,481
A*02:05	0,962	B*39:03	1,923	DRB1*01:01	1,442	DQB1*06:04	0,481
A*32:01	0,962	B*39:06	1,923	DRB1*09:01	1,442		
A*02:02	0,481	B*57:01	1,923	DRB1*04:04	0,962		
A*10:10	0,481	B*57:03	1,923	DRB1*11:03	0,962		
A*23:01	0,481	B*58:01	1,923	DRB1*11:04	0,962		
A*25:01	0,481	B*35:20	1,442	DRB1*01:03	0,481		
A*26:01	0,481	B*38:01	1,442	DRB1*03:02	0,481		
A*30:02	0,481	B*44:03	1,442	DRB1*10:01	0,481		
A*68:23	0,481	B*44:02	0,962	DRB1*11:02	0,481		
A*80:01	0,481	B*48:01	0,962	DRB1*13:01	0,481		
		B*14:01	0,481	DRB1*14:01	0,481		
		B*15:03	0,481	DRB1*14:06	0,481		
		B*15:08	0,481				
		B*35:03	0,481				
		B*39:14	0,481				
		B*40:02	0,481				
		B*40:09	0,481				
		B*50:01	0,481				
		B*51:02	0,481				
		B*52:01	0,481				
		B*78:02	0,481				

2. El análisis de HLA para los Mapuches con respecto a otras poblaciones Amerindias

El estudio se llevó a cabo con el software TreeView (pertenece al software DISPAN) para comparar las frecuencias de HLA de la población Mapuche, con las otras poblaciones Amerindias. La Figura 7 muestra un árbol de relación Neighbour-joining presenta cómo el grupo Mapuche se asocia principalmente con grupos étnicos Amerindios Figura 8. Estos estudios se hicieron a partir de genotipificación HLA-DRB1 y

HLA-DQB1. En estos gráficos se observa que los Mapuches se encuentran cerca de los grupos Amerindios aislados de Bolivia, Uros y Quechuas y alejados de los Amerindios Guaraníes, los cuales se hallan cercanos geográficamente, aunque esta no es la regla general. El análisis de correspondencia muestra que los Mapuches se encuentran asociados cercanamente a poblaciones como Uros, Quechuas, Toba Pilaga, Tarahumara, Toba del Este, Lamas y Mataco Wichi. Algunos son cercanos a ellos geográficamente y otros muy alejados (Tarahumara norteamericanos).

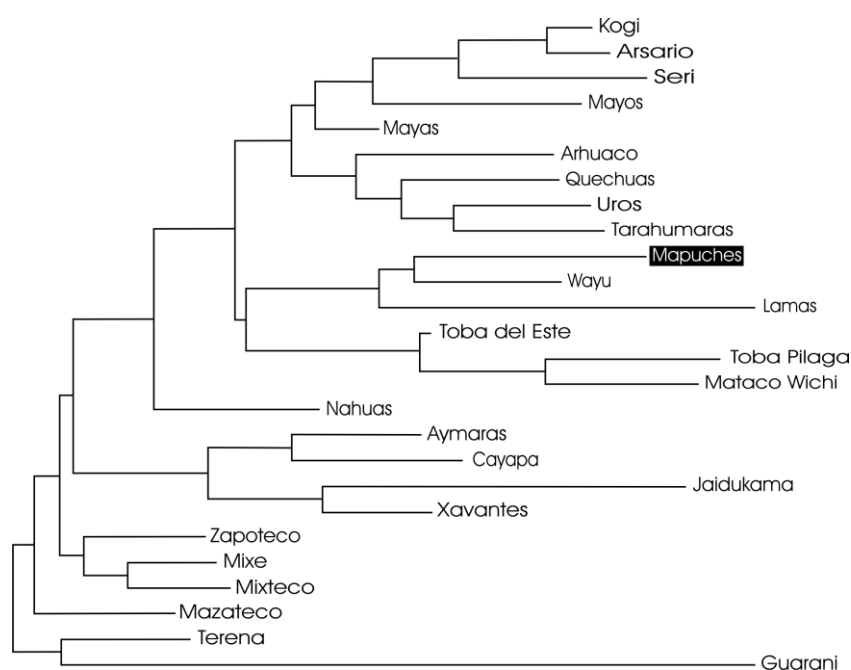


Figura 7. Dendrograma Neighbour-joining basado en las frecuencias alélicas de HLA-DRB1, donde se analiza el emparentamiento de los Mapuches con los demás Amerindios incluidos en el estudio.

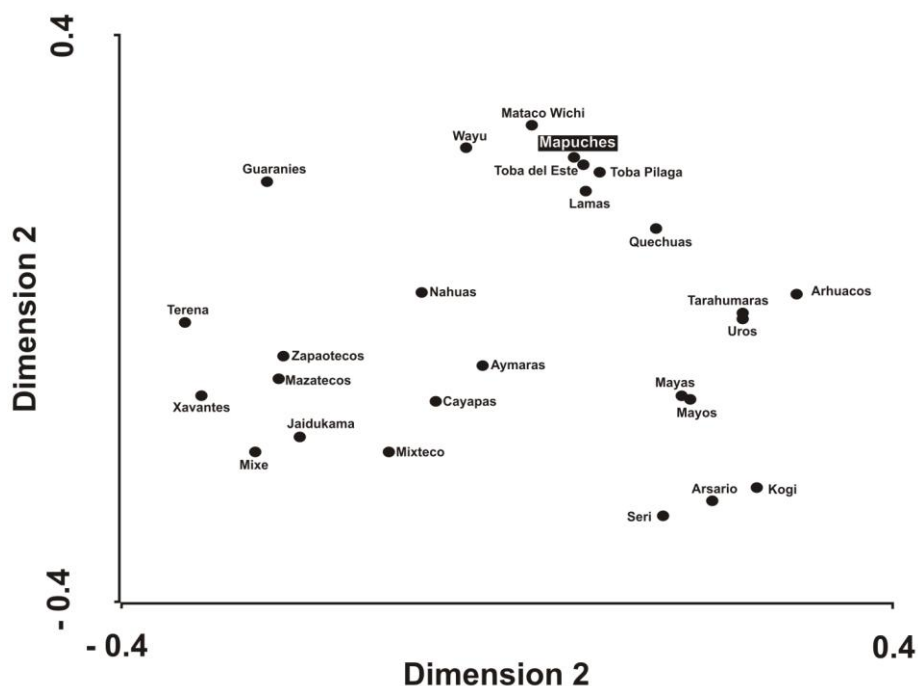


Figura 8. Análisis de correspondencia basado en frecuencias alélicas de HLA-DRB1. Mapuches analizados solo con las poblaciones Amerindias del presente estudio.

Las distancias genéticas entre los Mapuches y otras poblaciones, Tabla 5 muestran que se encuentran genéticamente cerca de las poblaciones más aisladas de los Andes Bolivianos y Peruanos, así como a varias poblaciones Mexicanas. Algunas poblaciones están cercanas geográficamente. En efecto las poblaciones más cercanas con base en las distancias genéticas (DG) calculadas a partir de los tipajes de los alelos DRB1 y el di-haplotipo DRB1-DQB1 son: a) para DRB1 con Uros (DG: 0.01990, Lago Titikaka), Wayu (DG: 0.1709, Norte de Colombia), Tarahumaras (DG: 0.239, Norte de México), Quechuas (DG: 0.2597, Bolivia), Toba del Este (DG: 0.2658, Argentina) y Lamas (DG: 0.275, Perú). Pero resalta el hecho que los Guaraníes (DG: 0.525, Paraguay), se encuentran muy alejados genéticamente de los Mapuches aunque la distancia geográfica entre las dos poblaciones es menor a la existente para las otras poblaciones que sí están relacionadas. b) para el Di-haplotipo DRB1-DQB1 sucede algo semejante. Las distancias más cercanas son: Uros (DG: 0.1457), Tarahumaras (DG:

0.1730)(México), Aymarás (DG: 0.1898, Perú), Quechuas (DG: 0.2054), Lamas Perú (DG: 0.2177), Wayu (Colombia, Venezuela) (DG: 0.2422) y sucede lo mismo que se observó para el alelo DRB1 en la población Guaraní (DG: 0.4023). Este fenómeno puede ser debido al bajo número de alelos HLA tipificados de la población Guaraní o a una mezcla (140). O a desplazamientos forzosos de población después de 1942, la mayoría ignorados.

2.1. Distribución de los alelos HLA encontrados en la población Mapuche

En la tabla 4 se muestran las frecuencias alélicas de cada locus HLA tanto clase I como clase II, obtenidos a partir de la muestra analizada. El tiraje se ha realizado por las técnicas descritas en el apartado de materiales y métodos.

Locus HLA-A

Los grupos alélicos más frecuentes en esta población son: A*68:01 (32,2%) las altas frecuencias de este alelo predominan en la población Tarahumara mexicana (150), pero también se hallan distribuidos en el cono sur; el A*02:01 (20,1%) es un alelo que predomina en el continente americano, pero está disperso por toda la geografía mundial; el A*03:01 (7,7%) se encuentra distribuido principalmente en población europea (113); el alelo A*31:01 (5,8%) encontrado en nuestra población se halla en mayores frecuencias en poblaciones de África y Suramérica (68).

Locus HLA-B

Se encontraron los alelos: B*39:09 (13,9%) distribuido en todo el continente americano y es el más frecuente en nuestra población (68); otro de los alelos en los Mapuches es el B*51:01 (5,8%) que se encuentra distribuido significativamente en poblaciones europeas y asiáticas (169,170); y el alelo B*08:01 (4,8%) con una gran incidencia en personas europeas (171,172).

Locus HLA-DRB1

El locus DRB1 en el grupo Mapuche, presenta un patrón restringido a los grupos DR4, DR2 y DR8 que representan al mayor porcentaje de los alelos encontrados. Su distribución es similar al resto de las poblaciones Amerindias de Suramérica.

DR1: En el grupo Mapuche, solo se encuentra el subtipo DRB1*01:01 (1,4%), alelo con alta frecuencia en poblaciones europeas y en muy baja frecuencia en unas pocas poblaciones Amerindias.

DR2: Presentan unas frecuencias moderadas, el alelo DRB1*16:02 (6,2%) y el alelo DRB1*15:01 (3,8%). El DRB1*16:02, es frecuente sobre todo en poblaciones Amerindias del centro y del norte de Suramérica. El alelo DRB1*15:01, tiene una distribución más amplia y se encuentra en caucasoides, africanos, orientales (excepto los japoneses) y en Amerindios con baja frecuencia (67,173).

DR3: Solo se hallaron los alelos DRB1*03:01 (5,8%) y DRB1*03:02 (0,5%) en esta muestra estudiada, que son alelos típicos de poblaciones europeas.

DR4: Los alelos DR4 representan una gran parte de las frecuencias de los alelos DR en esta población, el alelo más importante es el DRB1*04:03 (31,7%). Otros DR4 en esta población son: DRB1*04:07 (2,9%) y DRB1*04:04 (0,9%). Estos alelos, son frecuentes principalmente en las poblaciones Amerindias. Además el alelo DRB1*04:03 tiene una distribución amplia en grupos caucasoides, mediterráneos y orientales (67,126,158,174).

DR14: El más frecuente es el alelo DRB1*14:02 (14,9%). Este es cuasi específico de las poblaciones Amerindias. También se encuentra en poblaciones siberianas como los Udegeys y los Nivkhs (142).

DR8: De este grupo se ha encontrado el alelo DRB1*08:02 (9,6%). Este alelo, es frecuente en las poblaciones Amerindias de Norte, Centro y Suramérica. También, tiene una frecuencia importante en grupos negroides (senegaleses 5,0%, bosquimanos 3,9%) y en algunas poblaciones de Asia como Ainu (10%), Mongoles (5%) y Udegeys (11%).

DR9: En los individuos Mapuches, la frecuencia del alelo DRB1*09:01 es baja (4,4%). Es un alelo que se encuentra en altas frecuencias en grupos orientales, de Norteamérica y de Oceanía.

Locus HLA-DQB1

Los cuatro alelos DQB1 más frecuentes en el grupo Maya suman el 80,8% del total de los alelos existente en la muestra, estos son: DQB1*03:01 (33,2%), DQB1*03:02 (28,4%), DQB1*04:02 (10,1%) y DQB1*02:01 (9,1%). Las frecuencias de

los alelos DQB1, están directamente influenciadas por el desequilibrio de ligamiento existente entre DRB1 y DQB1.

Locus HLA-DRB1 con frecuencias alélicas

Con los datos del tipaje HLA-DRB1 se calcularon las distancias genéticas desde el grupo Mapuche hasta el resto de poblaciones (Tabla 5). Este análisis permite comparar a un número grande de poblaciones que cuentan con este tipaje HLA de clase II y ver en conjunto la relación del grupo Mapuche con otros grupos Amerindios y también con poblaciones de América, Europa, África y Asia.

En primer lugar se observó, que la población más cercana es el grupo Wayu (Colombia) ($17,09 \times 10^{-2}$) seguido de los Uros (Perú). Aparecen varias poblaciones más cercanas genéticamente a los Mapuches que las que geográficamente están más próximas, como los grupos Lakota Sioux, Tarahumara o Quechua. En segunda instancia, se observa un agrupamiento de todas las poblaciones indígenas de América, Tabla 5 y luego aparecen el resto de grupos poblacionales Orientales, Europeos y Mediterráneos. Por último, los Guaraníes (Brasil), como se puede apreciar en la Tabla 5, genéticamente se encuentran mucho más alejados de los Mapuches que otras muchas poblaciones no Amerindias. Posiblemente, haya podido ser debido a un error de muestreo (relativamente bajo número de individuos analizados). Sin embargo, los análisis de relaciones entre dos poblaciones (número de poblaciones comparadas) dimensiones de los árboles Neighbour-Joining de emparentamiento, dan datos complementarios y quizá más precisos.

Tabla 5. Distancias genéticas (x100) entre Mapuches y el resto de las poblaciones analizadas, de

Población	DGx100	Población	DGx100
Wayu	17,09	Tuvinianos	46,64
Uros	19,96	Franceses	47,69
Tarahumara	23,90	JudiosNoAshkenazi	48,18
Quechuas	25,97	Macedonios	48,81
Sioux-Lakota	26,21	Coreanos	50,71
Toba-Este	26,58	Cretenses	50,76
Lamas	27,50	Italianos	50,79
Arhuaco	29,56	Japoneses	51,67
Nahuas	30,02	Guarani	52,30
Mayas	30,12	Alemanes	52,50
Aymaras	31,31	Seri	52,78
Tlinglit	31,40	Bereberes	53,03
Zapoteco	32,57	Chinos-Singapur	53,68
Atabascos	34,90	Udegeys	53,87
Mataco-Wichi	35,72	Españoles	54,41
Mixteco	35,76	Chuvacios	54,51
Mixe	37,59	Jaidukama	55,04
Kogi	39,14	VascoEspanoles	55,19
Cayapa	39,70	Libano-NS	55,93
Xavantes	40,88	Argelinos	56,27
Terena	41,18	Buyi	56,65
Mayos	43,12	Manchues	57,31
Mazatecos	43,56	JudiosAshkenazi	57,37
Arsario	44,05	JudiosMarroquies	58,68
Toba-Pilaga	44,71	Nivkhs	59,39
Chukchi	44,71	Sardos	59,73
Libano-KZ	45,23	Mongoles-Khoton	60,42
Rusos	45,89	Daneses	64,42
Koryaks	46,17	Evenks	70,67
Eskimos	46,27	Kets	86,10
Mongoles-Khalk	46,34		

De acuerdo con las frecuencias alélicas de HLA-DRB1

3. Análisis de desequilibrio de ligamiento HLA-A, -B, -DRB1 y -DQB1 en Mapuches, comparada con poblaciones Amerindias

Se estimaron las asociaciones entre diferentes Loci HLA. Fueron calculadas las combinaciones más probables de 2 loci de haplotipos (A-B, B-DRB1 y DRB1-DQB1) tablas 6 y 7.

Tabla 6. Di-Haplotipos para HLA-A y –B presentes en la población Mapuche.

Di-Haplotipo A-B	%
A*68:01 B*39:09	7,212
A*02:01 B*39:09	4,327
A*68:01 B*51:01	3,846
A*03:01 B*07:02	3,365
A*68:01 B*35:04	3,365
A*29:01 B*08:01	1,923
A*68:01 B*39:01	1,923
A*02:01 B*15:01	1,442
A*02:01 B*39:03	1,442
A*02:01 B*39:06	1,442
A*02:01 B*57:01	1,442
A*02:01 B*57:03	1,442
A*24:02 B*39:01	1,442
A*33:01 B*14:02	1,442
A*68:01 B*35:20	1,442
A*01:01 B*38:01	0,962
A*01:01 B*51:01	0,962
A*02:01 B*39:01	0,962
A*02:05 B*58:01	0,962
A*03:01 B*51:01	0,962
A*11:01 B*08:01	0,962
A*31:01 B*39:09	0,962
A*68:01 B*15:01	0,962
A*68:01 B*48:01	0,962
A*03:01 B*27:05	0,721
A*03:01 B*35:01	0,721
A*31:01 B*27:05	0,721
A*31:01 B*35:01	0,721
A*01:01 B*08:01	0,481
A*01:01 B*39:06	0,481
A*01:01 B*57:01	0,481
A*02:01 B*07:02	0,481

Continúa	Di-Haplotipo A-B	%
	A*02:01 B*14:02	0,481
	A*02:01 B*35:01	0,481
	A*02:01 B*35:03	0,481
	A*02:01 B*44:02	0,481
	A*02:01 B*51:02	0,481
	A*02:02 B*58:01	0,481
	A*10:10 B*57:03	0,481
	A*23:01 B*08:01	0,481
	A*24:02 B*35:01	0,481
	A*25:01 B*44:02	0,481
	A*26:01 B*38:01	0,481
	A*29:01 B*39:09	0,481
	A*29:01 B*44:03	0,481
	A*30:02 B*35:01	0,481
	A*31:01 B*08:01	0,481
	A*31:01 B*15:08	0,481
	A*31:01 B*58:01	0,481
	A*32:01 B*08:01	0,481
	A*32:01 B*15:03	0,481
	A*33:01 B*14:01	0,481
	A*33:01 B*39:01	0,481
	A*68:01 B*35:01	0,481
	A*68:01 B*39:14	0,481
	A*68:01 B*40:02	0,481
	A*68:01 B*40:09	0,481
	A*68:01 B*44:03	0,481
	A*68:01 B*52:01	0,481
	A*68:01 B*78:02	0,481
	A*68:16 B*35:04	0,481
	A*68:16 B*39:03	0,481
	A*68:16 B*39:09	0,481
	A*68:23 B*27:05	0,481
	A*80:01 B*44:03	0,481

Tabla 7. Di-Haplotipos para HLA-DR y –DQ presentes en la población Mapuche.

Di-Haplotipo DR-DQ	%
DRB1*04:03 DQB1*03:02	14,904
DRB1*14:02 DQB1*03:01	14,904
DRB1*08:02 DQB1*04:02	9,615
DRB1*07:01 DQB1*03:03	6,731
DRB1*16:02 DQB1*03:01	6,25
DRB1*03:01 DQB1*02:01	5,769
DRB1*11:01 DQB1*03:01	3,365
DRB1*15:01 DQB1*06:02	3,329
DRB1*04:07 DQB1*03:02	2,885
DRB1*07:01 DQB1*02:01	2,885
DRB1*13:02 DQB1*06:09	1,923
DRB1*01:01 DQB1*05:01	1,442
DRB1*09:01 DQB1*03:03	1,442
DRB1*04:04 DQB1*03:02	0,962
DRB1*11:03 DQB1*03:01	0,962
DRB1*11:04 DQB1*03:01	0,962
DRB1*15:01 DQB1*03:01	0,517
DRB1*01:03 DQB1*05:01	0,481
DRB1*03:02 DQB1*02:01	0,481
DRB1*10:01 DQB1*05:01	0,481
DRB1*11:02 DQB1*03:01	0,481
DRB1*13:01 DQB1*06:03	0,481
DRB1*13:02 DQB1*06:04	0,481
DRB1*14:01 DQB1*05:03	0,481
DRB1*14:06 DQB1*03:01	0,481

Los 9 haplotipos extendidos más frecuentes en los Mapuches se presentan en la Tabla 8.

Tabla 8. Los 9 haplotipos extendidos (HLA-A-B-DRB1-DQB1) más frecuentes encontrados en Mapuches (Ver anexo 3)

Haplotipo	%	Posible Origen
A*68:01 B*39:09 DRB1*08:02 DQB1*04:02	3,85	Mapuche
A*68:01 B*51:01 DRB1*04:03 DQB1*03:02	2,40	Mapuche
A*03:01 B*07:02 DRB1*15:01 DQB1*06:02 ¹	1,92	
A*29:01 B*08:01 DRB1*03:01 DQB1*02:01	1,92	Mapuche
A*68:01 B*35:04 DRB1*14:02 DQB1*03:01 ²	1,92	Amerindio
A*02:01 B*15:01 DRB1*04:03 DQB1*03:02	1,45	Mapuche
A*02:01 B*39:09 DRB1*14:02 DQB1*03:01 ³	1,45	Amerindio
A*33:01 B*14:02 DRB1*07:01 DQB1*03:03	1,45	Mapuche
A*68:01 B*35:01 DRB1*04:03 DQB1*03:02 ⁴	1,45	Amerindio

¹Con HLA-A, -B en baja resolución se encuentra en Macedonios (FH: 0,8), Palestinos (FH: 0,6), Chuvashos (FH: 4,6), Cabuernigos (Norte de España) (FH: 2,9), Cantabros (Norte de España) (FH: 2,4), Pasiegos (Norte de España) (FH:

6,5), Madeira (FH: 1,4), Colombianos afroamericanos (FH: 1,5), Alpujarras (Sur de España) (FH: 0,8). Con HLA-A, -B en alta resolución – Polacos (FH:), Irlandeses del Sur (FH:), (171,172).

2 Con HLA-A, -B en baja resolución se encuentra en Teenek (FH: 2,8)

3 Con HLA-A, -B en baja resolución se encuentra en Lamas (FH: 3,6)

4 Con HLA-B*35:05 se encuentra en Uros (FH: 3,2)

Luego se realizó su comparación con los reportados previamente en otras poblaciones de Amerindios Tabla 8.

Los haplotipos extendidos más frecuentes poseen características Amerindias, aunque la mayoría de ellos son obtenidos por primera vez en este estudio. El haplotipo extendido de mayor frecuencia A*68:01-B*39:09-DRB1*08:02-DQB1*04:02 (3,85%) no ha sido reportado a la fecha, así como los haplotipos con frecuencias entre la segunda y cuartas más comunes. Cabe resaltar que el haplotipo A*03:01-B*07:02-DRB1*15:01-DQB1*06:02 (1,92%) cuya frecuencia es la tercera en esta población Mapuche, ha sido previamente descrita en poblaciones caucásicas del sur de Irlanda y Polonia Tabla 8 (171,172). Los demás haplotipos no han sido reportados previamente en ninguna población del Mundo.

4. Características de las frecuencias de los alelos HLA encontrados en la población Mapuche: Comparación con otras poblaciones del Mundo

Los valores de las frecuencias genéticas observadas y esperadas para los loci HLA-A, -B, -DRB1 y -DQB1, no difieren significativamente y la población se encuentra en equilibrio de Hardy-Weinberg. Las frecuencias de los Mapuches se encuentran en la Tabla 4.

En las Figuras 9 y 10 se encuentran los Neighbour-Joining y la representación de correspondencia a partir del loci DRB1, donde se comparan los datos de la población

Mapuche con otras del Mundo. También está la Tabla 5 donde se reportan las distancias genéticas entre los Mapuches y otras poblaciones del Mundo.

La longitud de las ramas horizontales indican una distancia genética relativamente grande a poblaciones geográficamente cercanas; la geografía y las distancias genéticas no coinciden, en general, en Amerindios, al contrario que en otras poblaciones.

El análisis de correspondencia, que se basa en el análisis de los componentes principales de la varianza de las medidas de las distancias genéticas, esquematiza las dos componentes relacionándolas todas entre sí. Es una representación bidimensional de una comparación tridimensional.

En los análisis de las figuras 9 y 10 se comprobó que la población Mapuche se agrupa junto al resto de poblaciones Amerindias y separadas del resto de los grupos poblacionales usados para la comparación, Figura 10. Estos grupos, a su vez se agrupan entre ellos. Así, las poblaciones mediterráneas se agrupan entre sí y se separan del resto de poblaciones que están relacionadas genéticamente.

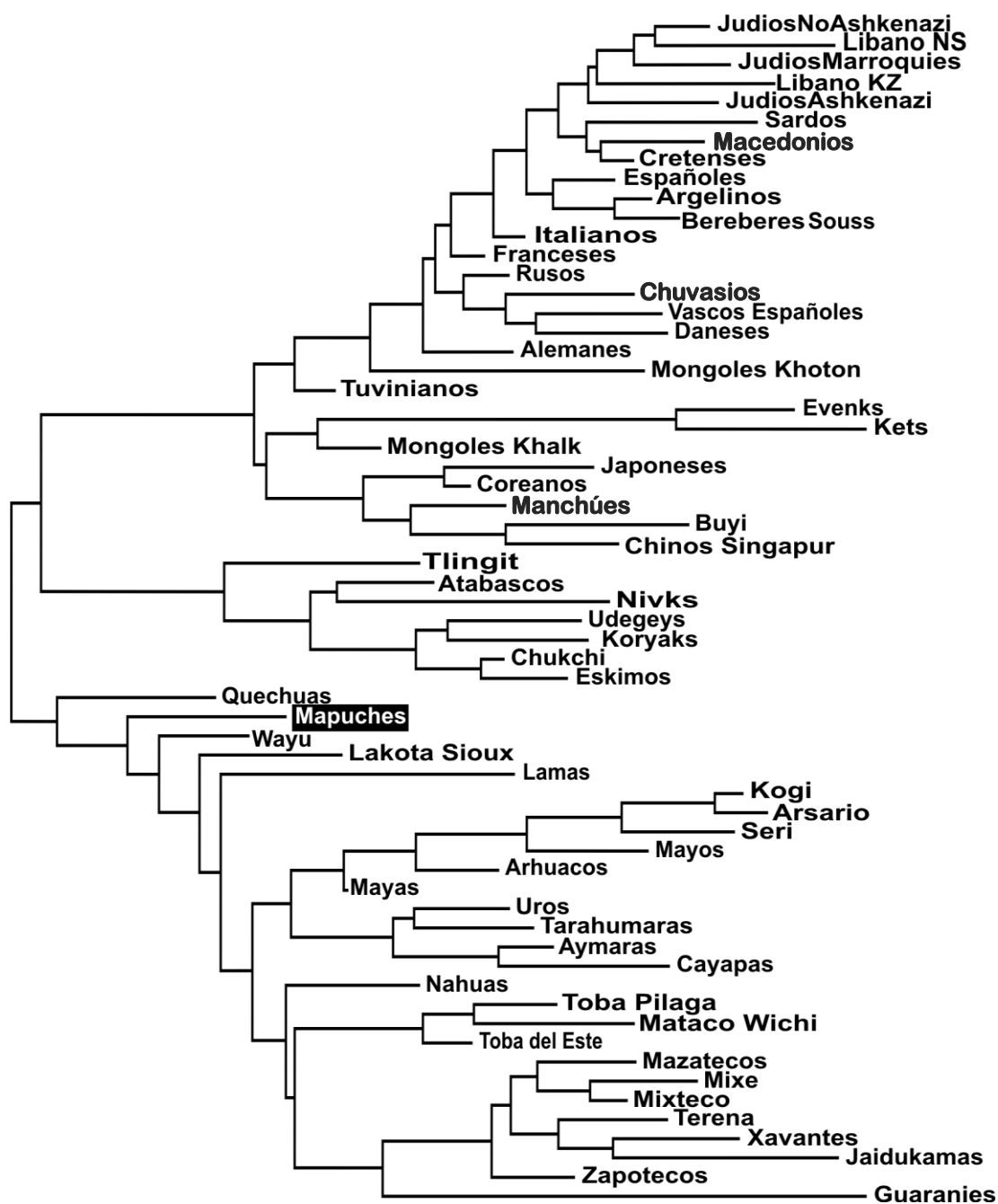


Figura 9. Dendrograma Neighbour-Joining basado en las frecuencias alélicas de HLA-DRB1, donde se analizaron los Mapuches con las demás poblaciones incluidas en el estudio.

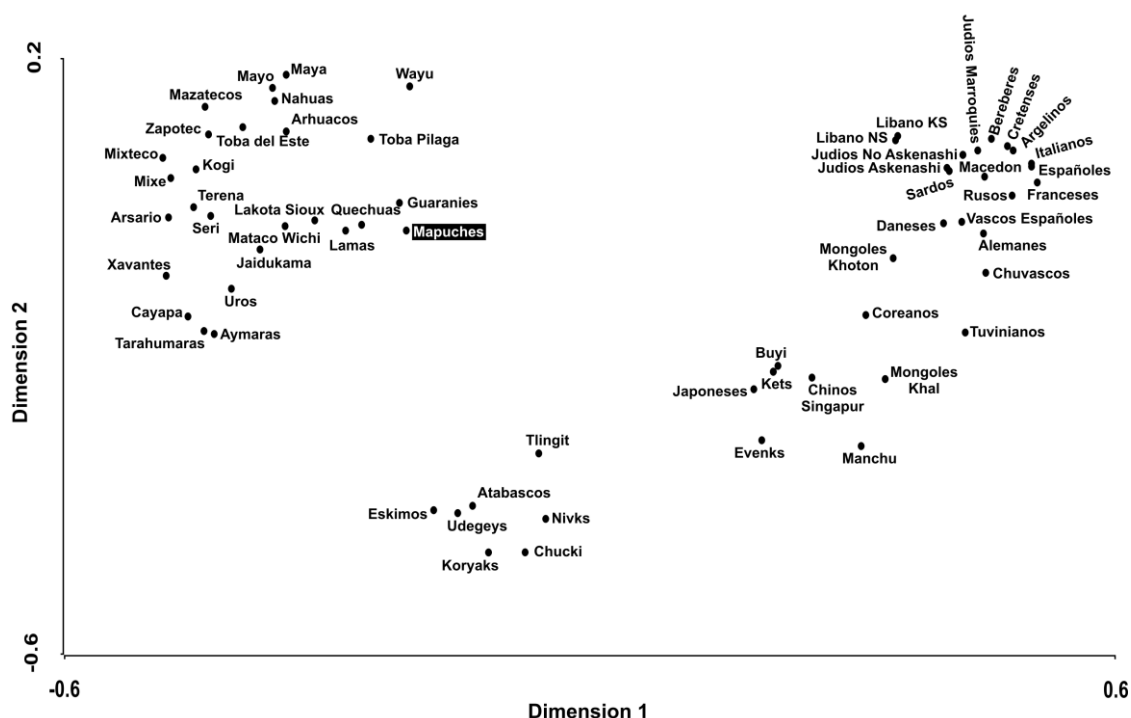


Figura 10. Análisis de correspondencia basado en frecuencias alélicas de HLA-DRB1. Mapuches analizados con las poblaciones del mundo del presente estudio.

También se aprecia la aparición de los alelos A*03:01 y A*01:01 (175,176) que son mayormente encontrados en población Europea y con alta frecuencia (7,69% y 4,81% respectivamente). Sin embargo, al observar las distancias genéticas se aprecia claramente que están muy alejados, lo cual puede ser debido al continuo mestizaje que ha sufrido esta población durante su historia que no ha variado estos alelos, pero sí los haplotipos extendidos (tabla 8) (113).

También se encontró un alelo HLA-A Asiático con alta frecuencia A*24:02 (2,89%) (177).

Respecto al locus HLA-B se hallaron los alelos B*39:09 con frecuencia alta (13,94%) y que se ha encontrado en Amerindios (178), B*51:01 el cual se encuentra en

poblaciones Europeas y Asiáticas (169,170). También se encontró el alelo B*08:01 (4,8%) que también se halla en poblaciones Europeas con altas frecuencias (171,172).

Respecto al locus HLA-DRB1 se encontraron alelos como DRB1*04:03 (31,7%) encontrado en poblaciones Polinesias (179). En estos datos se observa también, que se obtuvo el alelo DRB1*09:01 el cual está distribuido principalmente en población asiática y que tuvo una frecuencia relativamente alta (1,44%) (180). Además, el alelo DRB1*07:01 (9,6%) también es hallado en poblaciones Europeas (181).

Respecto al locus HLA-DQB1 se hallaron alelos como DQB1*02:01 (9,1%) encontrados en poblaciones Europeas (169) y Árabes (182,183).

DISCUSIÓN

1. Mapuches y otras poblaciones Amerindias

Nosotros estudiamos una población Amerindia del sur de Chile donde se aprecia que a pesar del mestizaje que hayan sufrido, todavía conservan características de poblaciones aisladas, como muestran los nuevos haplotipos HLA específicos, ya que los análisis los muestran cercanos a poblaciones como los Uros, Lamas, Wayu y Tarahumaras. En esta población solo se detectaron 20 alelos HLA-A y 31 alelos HLA-B diferentes. Solo dos alelos HLA-A (A*68:01 y A*02:01) y un alelo HLA-B (B*39:09) mostraron frecuencias por encima de 0,1.

Respecto a los genes HLA-II, solo dos alelos HLA-DRB1 (DRB1*04:03 y DRB1*14:02) y tres alelos HLA-DQB1 (DQB1*03:01, DQB1*03:02 y DQB1*04:02) mostraron mayores a 0,1. Todos estos alelos HLA clase I y HLA clase II han sido descritos anteriormente en otras poblaciones Amerindias (124,150,151,156,184).

Los dendogramas Neighbour-Joining y los análisis de correspondencia de DRB1 correlacionan a los Mapuches junto con poblaciones Amerindias como Tarahumaras, Uros, Wayu, Quechuas, Arhuacos, Lamas, Toba del Este, Toba Pilaga, Aymarás y Terena (Figuras 7, 8, 9 y 10). En lo que se refiere a las distancias genéticas (parámetro bidimensional), los Uros, Wayu, Tarahumaras, Quechuas y Aymarás son las poblaciones que se encuentran más cercanas a los Mapuches Tabla 5.

A partir de los resultados genéticos de HLA Tablas 2, 3, 4, 5, 6, 7 y 8 se puede deducir que nuestra muestra de Mapuches ha tenido contacto con gentes Europeas, porque se observa que existen alelos y un haplotipo extendido compartido con caucasoides, lo que está en concordancia con los datos históricos, genéticos y arqueológicos (113,118,119).

Los resultados de la tipificación de los genes HLA en la población Mapuche, confirma pues, que ellos pertenecen al perfil genético HLA Amerindio, especialmente relacionado con poblaciones Amerindias Suramericanas, pero dentro de esta información destaca el hecho de la presencia del alelo A*68:01 con la mayor frecuencia (32,21%), que se ha hallado en una población Amerindia Mexicana, los Tarahumaras (150) y que está concordancia con las distancias genéticas obtenidas. El alelo A*68:01 también es relativamente común en poblaciones Yupik y otros primeros nativos Norteamericanos (185).

2. Lenguajes Amerindios

El lenguaje de los Mapuches tiene una antigüedad aproximada de 1000 años, si bien estos datos hay que interpretarlos con cautela (113). El Mapudungun (116) se formó en el sur de Chile por debajo de la ribera del río Bío-Bío. A la llegada de los Españoles en el siglo XVI, encontraron una población que hablaba específicamente esta lengua (113).

Este idioma no posee ninguna raíz Amerindia común y es considerado una lengua asilada, aunque se ha dicho que existe una relación incipiente con el idioma

Arawak (muy extendido entre los indígenas Suramericanos, sobre todo de la Amazonía) aunque los resultados no han sido concluyentes y se sigue considerando la lengua como un tipo aislado (66,116,186). Lo anterior sirve de base para la explicación de los datos encontrados en el presente estudio y la bibliografía que presenta discordancia entre los datos genéticos con los datos lingüísticos. Ya que, en esta población Mapuche se aprecia una relación genética HLA estudiada (Tabla 4) con Uros, Quechuas y Wayu, tribus que poseen lenguajes muy distintos al Mapudungun (116). Esto aporta evidencia al grueso del conocimiento sobre las poblaciones donde, así estén relacionadas genéticamente de cerca en la mayoría de los casos no se puede aplicar lo mismo para los lenguajes (187).

Esta aseveración se puede explicar partiendo del origen de una de las lenguas de las tres poblaciones más cercanas genéticamente a los Mapuches. Por ejemplo, los Uros poseen un lenguaje también aislado, el Uro-chiyapa y sin ninguna relación sintáctica o semántica con el Mapudungun (116). De hecho, el Mapudungun se encuentra aislado de cualquier otra lengua Americana (188), pero como hemos presentado en este estudio, Los Mapuches sí poseen relación genética de HLA con algunas poblaciones suramericanas. Lo mismo ocurre en otras poblaciones Amerindias: el emparentamiento lingüístico no correlaciona con el emparentamiento genético (66,67).

Aunque existen evidencias arqueológicas de contacto comercial entre los Incas (lenguaje Quechua) y los antiguos Mapuches, los dos lenguajes no tienen relación aparente (113,116).

Otra de las etnias con relaciones genéticas cercanas respecto a los Mapuches, es la Wayu (Colombia), que no solo están alejados geográficamente, sino también lingüísticamente (116). Esto se confirma incluso cuando los estudios se dirigen en una dirección distinta a la forma de estudios tradicionales en lenguaje y evolución, inclusive con la inserción de las característica tipológicas de estos lenguajes (188).

3. Comparación de los Amerindios con todas las poblaciones del Mundo

La fuerza relativa de discriminación de los marcadores para explicar las diferentes poblaciones encontradas en los primeros nativos Americanos es difícil de determinar. Sin embargo, los marcadores clásicos de mtDNA y Cro Y han generado interpretaciones contrapuestas acerca del poblamiento de América por una o más oleadas de migración (66).

Las frecuencias del subtipo del virus HTLV-1 en las poblaciones sugieren relación cercana entre Amerindios y Japoneses (66). Todos estos datos no son aislados y deberían tenerse en cuenta para hipótesis de la historia del poblamiento y las relaciones de los primeros nativos Americanos. De hecho, el escenario real puede ser completamente diferente y más complicado que lo previsto, ya que los sitios arqueológicos más antiguos, están lejos de la postulada puerta de entrada: el Estrecho de Bering: en Monteverde, (Chile) y Peña Furada (Brazil) (189,190).

Los árboles NJ y los análisis de correspondencia fueron elaborados con varias poblaciones del Mundo y poblaciones Americanas (Figuras 9 Y 10). Esto fue posible por el uso en este caso de los genes DRB1; pero este dendograma y sus distancias

genéticas Tabla 5 demuestran de nuevo que los Amerindios (Meso y Suramericanos) no están relacionados genéticamente, ni con los Na-Dene (Atabascos) ni los Esquimos; los últimos están relacionados con los Siberianos (70).

Nuestros datos muestran que existe una relación de los Mapuches con algunas poblaciones Europeas, Orientales y Árabes cuando se hace un análisis de los alelos HLA-A, -B, -DRB1 y -DQB1. Ellos fuente de las interpretaciones antes de 1492.

Por otro lado, los indígenas Meso y Sur Americanos podrían haber venido de Asia (los Norteamericanos están peor estudiados: hay escasez de datos) y su perfil antigénico HLA pudiera haber cambiado debido al severo cuello de botella que pudieron experimentar después de la invasión Europea en 1492: aproximadamente 80'000.000 de personas murieron, por contacto con nuevos patógenos (Sarampión, Influenza, Viruela) y la guerra con Europeos (109).

Se ha propuesto que hubo una resistencia híbrida de genes HLA contra las enfermedades Europeas, producto de la hibridación genética Europeo-Amerindio y posterior conversión génica intragénica (191), generándose nuevos alelos mixtos europeos/Amerindios, ya resistentes.

Sin embargo, el hecho que los Amerindios fueran susceptibles a las enfermedades europeas sugiere que su perfil original de moléculas HLA era muy diferente al de los Euroasiáticos.

4. Programas de trasplante y elaboración de listas de espera virtuales y cooperativas.

Nuestra población Mapuche se ubica en Chile en el área rural y es una población indígena que ha sufrido un mestizaje desde la llegada de los Europeos a América en 1492. Sin embargo, los siguientes alelos HLA típicos de Amerindios aislados se encuentran en esta población con frecuencias altas: A*68:01, B*39:09, DRB1*04:03 y DQB1*03:01 (66) Tabla 4. También, la mayoría de los haplotipos HLA-A, -B, -DRB1 y -DQB1 en esta población son nuevos. Algunos alelos se encuentran en poblaciones Amerindias aisladas como, Sikuni Nukak (Colombia) (192), Uros (156), Yucpa (178) y Tarahumara (150). La compatibilidad HLA es necesaria para los trasplantes de órganos sólidos y médula ósea. Particularmente, la compatibilidad debe ser estricta para trasplante de médula ósea (193). El perfil completo de HLA Amerindio es diferente del resto del Mundo (194) y existen alelos cuasi específicos para estas etnias (66). En esta población se aprecia por ejemplo la presencia del alelo HLA-B8, que predispone a fallo renal en Mapuches durante los trasplantes renales, lo cual se puede convertir en un factor predisponente del rechazo del trasplante, que en un hipotético programa de trasplantes debería tenerse en cuenta (66,137,147,158,195). El fenómeno de que los Amerindios presentan un perfil HLA distinto al resto del mundo también ocurre en nuestra población Mapuche: las Figuras 9 y 10 muestran cómo ellos se agrupan juntos con grupos Amerindios aislados. De esta manera los trasplantes entre esta población y otras poblaciones del Mundo con buena compatibilidad HLA puede ser difícil, y sería necesario que se crearan programas internacionales de trasplantes para llevar a cabo un tratamiento de trasplantes propio para Mapuches y Amerindios en general (196).

En resumen, es imprescindible definir el perfil HLA de los Mapuches y de los Amerindios, para poder establecer programas de trasplantes y definir programas preventivos y epidemiológicos para enfermedades ligadas a HLA. También, es importante que exista mayor difusión e interrelación entre los programas de trasplantes existente en los países que albergan las poblaciones Amerindias y los de otros países, especialmente los países más desarrollados y con más programas de trasplante (195). Para establecer un buen programa de cooperación y de intercambio de información y crear una base de datos accesible para todos. Un ejemplo de esto, es el programa de trasplante renal en Chile, donde se han comenzado a realizar algunos estudios en trasplante renal y HLA con énfasis en parte de la población Mapuche (197).

5. Mapuches y Enfermedades ligadas a HLA: farmacogenómica

En las poblaciones Amerindias, existen muchos problemas de salud, de lo cual no está excluida la población Mapuche. Uno de esos problemas se encuentra especialmente en el área de los trasplantes (196) y el diagnóstico de enfermedades ligadas a la HLA. La compatibilidad de HLA entre donante y receptor tiene especial importancia en el injerto de médula ósea y en menor grado en trasplante de riñón (198). Otros injertos de órganos sólidos también mejoran la supervivencia con una buena compatibilidad HLA (199,200). El perfil HLA Amerindio es muy diferente a cualquier otra población en el mundo, de esta manera una lista de espera específica de trasplantes ha de ser una propuesta para los Amerindios, incluidos los Mapuches.

Las enfermedades ligadas a HLA también muestran un patrón diferente de ligamiento en Amerindios. La diabetes tipo I (T1D) se encuentra exclusivamente en los

Amerindios mezclados con Europeos; de esta manera la T1D no existe en Amerindios puros, pero el alelo HLA-DRB1*03 se ha encontrado en esta población Mapuche, reconocido alelo asociado con diabetes en Caucásicos (201). En la población Mapuche ocurre una particularidad, durante los siglos posteriores a la llegada de los Europeos a América en 1492 y a diferencia de lo sucedido con las otras poblaciones existentes en esa época en América donde hubo mestizaje en una sola dirección (españoles con mujeres indígenas), en los Mapuches se dio mestizaje en doble vía, lo que provocó que alelos Europeos fueran transferidos a la descendencia Mapuche (116). Esto se aprecia con la aparición del alelo HLA-DRB1*03 con una frecuencia baja (6,25%, sumatoria de la frecuencia de DRB1*03:01 y DRB1*03:02). Se ha establecido que los genes HLA no confieren susceptibilidad a la diabetes en las poblaciones de Amerindios puros, a menos que existiera una mezcla con Europeos, que es el caso de la población Mapuche de nuestro estudio (112).

Por lo tanto, nuestra muestra de Mapuches la cual presenta principalmente haplotipos HLA extendidos Amerindios, también presenta un solo haplotipo que sería de origen Caucásico (A*29:01-B*08:01-DRB1*03:01-DQB1*02:01) y que posee el alelo diabetogénico. En conclusión, nuestra población Mapuche, puede tener un gen de susceptibilidad para diabetes tipo I, con frecuencia baja. Anteriormente, nuestro grupo encontró un caso de diabetes en Mapuche, pero sin relación directa con el alelo DRB1*03 (112): los individuos Mapuche con T1D solo presentaban HLA Amerindios.

Además, la Espondilitis Anquilosante (EA) está ligada a diferentes subtipos de HLA-B*27 en caucasoides y otras poblaciones del Mundo. Esta enfermedad no ha sido encontrada en Amerindios, pero la HLA-B*27:05 (1,92%) se ha encontrado en esta

población Mapuche y en otras poblaciones Amerindias (202). Y está presente en todas las poblaciones del Mundo, también ligada a EA. La HLA-B*27:05 se encuentra en 3 haplotipos de nuestra población con muy baja frecuencia Tabla 4.

La Artritis Reumatoide (AR) se ha hallado asociado a HLA-DRB1*14:02 y HLA-DRB1*09 en Amerindios (203). DRB1*14:02 es uno de los alelos más frecuentes en Mapuches y también se encuentra el alelo DRB1*09:01 con baja frecuencia Tabla 4. Esto hace que esta población tenga la posibilidad de ser susceptible a adquirir esta enfermedad con probabilidad significativa (203).

Nosotros hemos escogido las enfermedades más prevalentes que se encuentran ligadas a la HLA y concluimos que los Mapuches poseen factores susceptibles para AR y EA con baja frecuencia y con mayor para T1D. Aunque esto no descarta la aparición de otra enfermedad autoinmune ligada a la HLA en este grupo. Deben crearse programas preventivos y protectores, dirigidos especialmente hacia AR.

La infección por VIH es tratada y pronosticada hoy en día con base en el perfil HLA (204). El alelo HLA-B*57 está asociada con un control efectivo de la infección por este virus y un mejor pronóstico, incluso con poco o ningún tratamiento (204). Nosotros encontramos dos alelos B*57:01 y B*57:03 en nuestra población Mapuche. De esta forma se puede deducir que estos alelos pueden causar protección contra la infección. Especialmente el alelo B*57:03, cuya presencia debe ser tenido en cuenta para estudios de tipo molecular y celular *in vitro*, para medir su respuesta frente al virus y su presentación a los linfocitos T citotóxicos (204).

Finalmente, los estudios de farmacogenómica ligada a HLA se han hecho principalmente en poblaciones caucasoides. Se debe concluir que es necesario comenzar estos estudios en Amerindios y en nuestra población Mapuche, por el impacto que tendrá en la terapéutica de varias patologías.

CONCLUSIONES

A partir del estudio genético HLA realizado en la población Amerindia de los Mapuches Araucanos y los análisis comparativos realizados con otras poblaciones Amerindias y del resto del mundo, se puede concluir:

1. Se ha comparado una muestra de la población Mapuche con otros Amerindios y con otras poblaciones del resto del mundo. Se han comparado un total de 12924 cromosomas.
2. Los estudios comparativos de estas poblaciones por medio de dendrogramas y de análisis de correspondencia de las frecuencias de alelos HLA de clase II, permiten encuadrar a la población Mapuche dentro del conjunto de poblaciones Amerindias, que están relativamente separadas del resto de poblaciones del mundo.
3. Al estudiar las relaciones de Mapuches entre otras poblaciones Amerindias, se comprueba que no hay correlación entre la genética HLA, la lingüística y la situación geográfica de Amerindios.
4. La mayoría de los haplotipos extendidos HLA obtenidos en la población Mapuche son característicos de las poblaciones Amerindias.
5. Los más frecuentes haplotipos extendidos específicos de la población Mapuche son:
A*68:01-B*39:09-DRB1*08:02-DQB1*04:02, A*68:01-B*51:01-
DRB1*04:03-DQB1*03:02, A*29:01-B*08:01-DRB1*03:01-DQB1*02:01,

A*02:01-B*15:01-DRB1*04:03-DQB1*03:02, A*33:01-B*14:02-DRB1*07:01-DQB1*03:03.

6. Nuestros resultados tienden a apoyar la hipótesis de un poblamiento de América en varias oleadas migratorias desde distintos lugares del continente asiático (sin descartar totalmente otras hipótesis, como la llegada paleolítica de población europea).
7. La presencia de un algún haplotipo extendido típicamente de origen caucasoide en la población Mapuche, indica que ha habido flujo genético con poblaciones europeas en algún momento desde la llegada de los europeos a América.
8. El perfil HLA obtenido de la población Mapuche, nos permite disponer de una lista de espera virtual de trasplante para un futuro terapéutico próximo, y también perfiles HLA de aplicación en farmacogenómica y sus terapéuticas.
9. Los genes HLA y las lenguas no correlacionan, lo que es generalizado en el caso de Amerindios, y contradice el mito de que genes y lenguas siguen una evolución paralela.

BIBLIOGRAFÍA

1. Gomez-Casado E. Relaciones entre Cretenses y otros pueblos Mediterráneos según los genes HLA y las culturas. Universidad Complutense de Madrid. 2001.
2. Ferrando P, San Roman C, Rodriguez dC, Arnaiz-Villena A. Partial trisomy 6p: 46,XX, -10, der(10),t(6;10) (p22;q26)pat and HLA localisation. J Med Genet. 1981; 18:231-4.
3. Complete sequence and gene map of a human major histocompatibility complex. The MHC sequencing consortium. Nature. 1999; 401:921-3.
4. Klein J. Evolution and function of the major histocompatibility system; facts and speculations. The major histocompatibility system in man and animal. New York: Springer-Verlag. 1977.
5. The Anthony Nolan Trust. <http://www.anthonynolan.org.uk>. The Anthony Nolan Trust. Consultada en Aug.-1-2010.
6. Geraghty DE, Koller BH, Hansen JA, Orr HT. The HLA class I gene family includes at least six genes and twelve pseudogenes and gene fragments. J Immunol. 1992; 149:1934-46.
7. Geraghty DE, Koller BH, Pei J, Hansen JA. Examination of four HLA class I pseudogenes. Common events in the evolution of HLA genes and pseudogenes. J Immunol. 1992; 149:1947-56.

8. Malissen M, Malissen B, Jordan BR. Exon/intron organization and complete nucleotide sequence of an HLA gene. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* 1982; 79:893-7.
9. Jordan BR, Caillol D, Damotte M, Delovitch T, Ferrier P, Kahn-Perles B, Kourilsky F, Layet C, Le Bouteiller P, Lemonnier FA. HLA class I genes: from structure to expression, serology and function. *Immunol Rev.* 1985; 84:73-92.
10. Ploegh HL, Orr HT, Strominger JL. Major histocompatibility antigens: the human (HLA-A, -B, -C) and murine (H-2K, H-2D) class I molecules. *Cell.* 1981; 24:287-99.
11. Moscoso J. Estudio del Complejo Principal de Histocompatibilidad en los Mayas: relaciones con otros Amerindios y con el poblamiento de América. Universidad Complutense de Madrid. 2006.
12. Srivastava R, Duceman BW, Biro PA, Sood AK, Weissman SM. Molecular organization of the class I genes of human major histocompatibility complex. *Immunol Rev.* 1985; 84:93-121.
13. Parham P, Lomen CE, Lawlor DA, Ways JP, Holmes N, Coppin H, Salter RD, Wan AM, Ennis PD. Nature of polymorphism in HLA-A, -B, and -C molecules. *PNAS.* 1988; 85:4005-9.
14. Connolly JM, Hansen TH, Ingold AL, Potter TA. Recognition by CD8 on cytotoxic T lymphocytes is ablated by several substitutions in the class I alpha 3 domain: CD8 and the T-cell receptor recognize the same class I molecule. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* 1990; 87:2137-41.

15. Bjorkman PJ, Saper MA, Samraoui B, Bennett WS. Structure of the human class I histocompatibility antigen, HLA-A 2. *Nature*. 1987; 329:506-12.
16. Saper MA, Bjorkman PJ, Wiley DC. Refined structure of the human histocompatibility antigen HLA-A2 at 2.6 Å resolution. *J Mol Biol*. 1991; 219:277-319.
17. Garrett TP, Saper MA, Bjorkman PJ, Strominger JL, Wiley DC. Specificity pockets for the side chains of peptide antigens in HLA-Aw68. *Nature*. 1989; 342:692-6.
18. Madden DR, Gorga JC, Strominger JL, Wiley DC. The structure of HLA-B27 reveals nonamer self-peptides bound in an extended conformation. *Nature*. 1991; 353:321-5.
19. Bjorkman PJ, Saper MA, Samraoui B, Bennett W, Strominger J, Wiley DC. The foreign antigen binding site and T cell recognition regions of class I histocompatibility antigens. *Nature*. 1987; 329:512-8.
20. Kaufman JF, Auffray C, Korman AJ, Shackelford DA, Strominger J. The class II molecules of the human and murine major histocompatibility complex. *Cell*. 1984; 36:1-13.
21. Dausset J, Colombani J. Histocompatibility testing 1972 Copenhagen: Munksgaard. 1972.
22. Bodmer JG, Cambon-Thomson J, Hors J, Piazza A, Sánchez-Mazas A. Anthropology report introduction. In *Genetic Diversity of HLA Functional and Medical Implications*. ed. D. Charron, Vol 2 EDK. Paris: 1997.

23. Martinez-Laso J, de Juan D, Martinez-Quiles N, Gomez-Casado E, Cuadrado E, Arnaiz-Villena A. The contribution of the HLA-A, -B, -C and -DR, -DQ DNA typing to the study of the origins of Spaniards and Basques. *Tissue Antigens*. 1995; 45:237-45.
24. Imanishi T, Akaza T, Kimura A, Tokunaga K, Gojobori T. Genetic relationships among various human populations indicated by MHC polymorphisms. In *HLA* 1991. eds. K.Tsuji, M.Aizawa, and T.Sasazuki, Oxford University Press. Oxford: 1992.pp 627-32
25. Imanishi T, Akaza T, Kimura A, Tokunaga K, Gojobori T. Allele and haplotype frequencies for HLA and complement loci in various ethnic groups. In *HLA* 1991. eds. K.Tsuji, M.Aizawa, and T.Sasazuki, Oxford University Press. Oxford: 1992.pp 1065-220
26. Clayton J, Lonjou C. Allele and Haplotype frequencies for HLA loci in various ethnic groups. In *Genetic Diversity of HLA. Functional and Medical Implications*. ed. D.Charron, EDK. Paris: 1997.pp 665-820
27. Arnaiz-Villena A, Benmamar D, Alvarez M, Diaz-Campos N, Varela P, Gomez-Casado E, Martinez-Laso J. HLA allele and haplotype frequencies in Algerians. Relatedness to Spaniards and Basques. *Hum.Immunol*. 1995; 43:259-68.
28. Arnaiz-Villena A, Martinez-Laso J, Gomez-Casado E, Diaz-Campos N, Santos P, Martinho A, Breda-Coimbra H. Relatedness among Basques, Portuguese, Spaniards, and Algerians studied by HLA allelic frequencies and haplotypes. *Immunogenetics*. 1997; 47:37-43.

29. Gomez-Casado E, Vargas-Alarcon G, Martinez-Laso J, Perez-Blas M, Granados J, Layrisse Z, Montoya F, Varela P, Arnaiz-Villena A. Generation of the HLA-B35, -B5, -B16, and B15 groups of alleles studied by intron 1 and 2 sequence analysis. *Immunogenetics*. 1997; 46:469-76.
30. Gomez-Casado E, Vargas-Alarcon G, Martinez-Laso J, Granados J, Varela P, Alegre R, Longas J, Gonzalez-Hevilla M, Martin-Villa JM, Arnaiz-Villena A. Evolutionary relationships between HLA-B alleles as indicated by an analysis of intron sequences. *Tissue Antigens*. 1999; 53:153-60.
31. Thomson G. HLA population genetics. *Baillieres Clin Endocrinol Metab*. 1991; 5:247-60.
32. Takahata N. Allelic genealogy and human evolution. *Mol Biol Evol*. 1993; 10:2-22.
33. Aimel JL. Histocompatibility testing Copenhagen: Munksgaard. 1967.
34. Serrano-Vela J. Polimorfismo y evolución de genes de histocompatibilidad en aves silvestres del género *Carduelis*. Universidad Complutense de Madrid. 2009.
35. Hill AV. Immunogenetics and genomics. *Lancet*. 2001; 357:2037-41.
36. Fernando MM, Stevens CR, Walsh EC, De Jager PL, Goyette P, Plenge RM, Vyse TJ, Rioux JD. Defining the role of the MHC in autoimmunity: a review and pooled analysis. *PLoS Genet*. 2008; 4:e1000024.

37. Hill AV, Allsopp CE, Kwiatkowski D, Anstey NM, Twumasi P, Rowe PA, Bennett S, Brewster D, McMichael AJ, Greenwood BM. Common west African HLA antigens are associated with protection from severe malaria. *Nature*. 1991; 352:595-600.
38. Singh R, Kaul R, Kaul A, Khan K. A comparative review of HLA associations with hepatitis B and C viral infections across global populations. *World J Gastroenterol*. 2007; 13:1770-87.
39. Carrington M, Nelson GW, Martin MP, Kissner T, Vlahov D, Goedert JJ, Kaslow R, Buchbinder S, Hoots K, O'Brien SJ. HLA and HIV-1: heterozygote advantage and B*35-Cw*04 disadvantage. *Science*. 1999; 283:1748-52.
40. Trachtenberg E, Erlich H. A review of the role of the human leukocyte antigen (HLA) system as a host immunogenetic factor influencing HIV transmission and progression to AIDS. *DEC*. 2001;43-60.
41. Becquemont L. HLA: a pharmacogenomics success story. *Pharmacogenomics*. 2010; 11:277-81.
42. Charron D. HLA, immunogenetics, pharmacogenetics and personalized medicine. *Vox Sang*. 2011; 100:163-6.
43. Chung WH, Hung SI, Hong HS, Hsieh MS, Yang LC, Ho HC, Wu JY, Chen YT. Medical genetics: a marker for Stevens-Johnson syndrome. *Nature*. 2004; 428:486.
44. Ozeki T, Mushiroda T, Yowang A, Takahashi A, Kubo M, Shirakata Y, Ikezawa Z, Iijima M, Shiohara T, Hashimoto K, Kamatani N, Nakamura Y. Genome-wide

- association study identifies HLA-A*3101 allele as a genetic risk factor for carbamazepine-induced cutaneous adverse drug reactions in Japanese population. *Hum.Mol.Genet.* 2011; 20:1034-41.
45. Locharernkul C, Loplumlert J, Limotai C, Korkij W, Desudchit T, Tongkobpetch S, Kangwanshiratada O, Hirankarn N, Suphapeetiporn K, Shotelersuk V. Carbamazepine and phenytoin induced Stevens-Johnson syndrome is associated with HLA-B*1502 allele in Thai population. *Epilepsia.* 2008; 49:2087-91.
46. Hung SI, Chung WH, Liou LB, Chu CC, Lin M, Huang HP, Lin YL, Lan JL, Yang LC, Hong HS, Chen MJ, Lai PC, Wu MS, Chu CY, Wang KH, Chen CH, Fann CS, Wu JY, Chen YT. HLA-B*5801 allele as a genetic marker for severe cutaneous adverse reactions caused by allopurinol. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* 2005; 102:4134-9.
47. Mallal S, Nolan D, Witt C, Masel G, Martin AM, Moore C, Sayer D, Castley A, Mamotte C, Maxwell D, James I, Christiansen FT. Association between presence of HLA-B*5701, HLA-DR7, and HLA-DQ3 and hypersensitivity to HIV-1 reverse-transcriptase inhibitor abacavir. *Lancet.* 2002; 359:727-32.
48. Hetherington S, Hughes AR, Mosteller M, Shortino D, Baker KL, Spreen W, Lai E, Davies K, Handley A, Dow DJ, Fling ME, Stocum M, Bowman C, Thurmond LM, Roses AD. Genetic variations in HLA-B region and hypersensitivity reactions to abacavir. *Lancet.* 2002; 359:1121-2.

49. Donaldson P, Bhatnagar P, Graham J, Henderson J, Leathant J, Pirmohamed M, Bernal W, Aithal G, Day C, Daly A. Flucloxacillin-Induced liver injury: the extended MHC 57.1 haplotype as a major risk factor. *Hepatology*. 2008; 48:396A-7A.
50. Daly AK, Donaldson PT, Bhatnagar P, Shen Y, Pe'er I, Floratos A, Daly MJ, Goldstein DB, John S, Nelson MR, Graham J, Park BK, Dillon JF, Bernal W, Cordell HJ, Pirmohamed M, Aithal GP, Day CP. HLA-B*5701 genotype is a major determinant of drug-induced liver injury due to flucloxacillin. *Nat. Genet.* 2009; 41:816-9.
51. Martin AM, Nolan D, James I, Cameron P, Keller J, Moore C, Phillips E, Christiansen FT, Mallal S. Predisposition to nevirapine hypersensitivity associated with HLA-DRB1*0101 and abrogated by low CD4 T-cell counts. *AIDS*. 2005; 19:97-9.
52. Kindmark A, Jawaid A, Harbron CG, Barratt BJ, Bengtsson OF, Andersson TB, Carlsson S, Cederbrant KE, Gibson NJ, Armstrong M, Lagerstrom-Fermer ME, Dellsen A, Brown EM, Thornton M, Dukes C, Jenkins SC, Firth MA, Harrod GO, Pinel TH, Billing-Clason SM, Cardon LR, March RE. Genome-wide pharmacogenetic investigation of a hepatic adverse event without clinical signs of immunopathology suggests an underlying immune pathogenesis. *Pharmacogenomics.J.* 2008; 8:186-95.
53. Gueant-Rodriguez RM, Gueant JL, Viola M, Tramoy D, Gaeta F, Romano A. Association of tumor necrosis factor-alpha -308G>A polymorphism with IgE-

- mediated allergy to betalactams in an Italian population. *Pharmacogenomics.J.* 2008; 8:162-8.
54. Romano A, De Santis A, Romito A, Di Fonso M, Venuti A, Gasbarrini GB, Manna R. Delayed hypersensitivity to aminopenicillins is related to major histocompatibility complex genes. *Ann.Allergy Asthma Immunol.* 1998; 80:433-7.
55. O'Donohue J, Oien KA, Donaldson P, Underhill J, Clare M, MacSween RN, Mills PR. Co-amoxiclav jaundice: clinical and histological features and HLA class II association. *Gut.* 2000; 47:717-20.
56. Dettling M, Cascorbi I, Opgen-Rhein C, Schaub R. Clozapine-induced agranulocytosis in schizophrenic Caucasians: confirming clues for associations with human leukocyte class I and II antigens. *Pharmacogenomics.J.* 2007; 7:325-32.
57. Lonjou C, Borot N, Sekula P, Ledger N, Thomas L, Halevy S, Naldi L, Bouwes-Bavinck JN, Sidoroff A, de Toma C, Schumacher M, Roujeau JC, Hovnanian A, Mockenhaupt M. A European study of HLA-B in Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis related to five high-risk drugs. *Pharmacogenet.Genomics.* 2008; 18:99-107.
58. Kim SH, Choi JH, Lee KW, Kim SH, Shin ES, Oh HB, Suh CH, Nahm DH, Park HS. The human leucocyte antigen-DRB1*1302-DQB1*0609-DPB1*0201 haplotype may be a strong genetic marker for aspirin-induced urticaria. *Clin.Exp.Allergy.* 2005; 35:339-44.

59. Zachary AA, Kopchaliiska D, Jackson AM, Leffell MS. Immunogenetics and immunology in transplantation. *Immunol Res.* 2010; 47:232-9.
60. Abbas A, Lichtman A, Pillai S. Transplantation Immunology. In *Cellular and Molecular Immunology*. ed. Saunders, Elsevier. Philadelphia: 2007. pp 375-96
61. Clarkson MR, Sayegh MH. T-cell costimulatory pathways in allograft rejection and tolerance. *Transplantation.* 2005; 80:555-63.
62. Colvin RB, Smith RN. Antibody-mediated organ-allograft rejection. *Nat. Rev. Immunol.* 2005; 5:807-17.
63. Halloran PF. Immunosuppressive drugs for kidney transplantation. *N. Engl. J Med.* 2004; 351:2715-29.
64. Heeger PS. T-cell allorecognition and transplant rejection: a summary and update. *Am. J Transplant.* 2003; 3:525-33.
65. Walsh PT, Taylor DK, Turka LA. Tregs and transplantation tolerance. *J Clin Invest.* 2004; 114:1398-403.
66. Arnaiz-Villena A, Parga-Lozano C, Moreno E, Areces C, Rey D, Gomez-Prieto P. The Origin of Amerindians and the Peopling of the Americas According to HLA Genes: Admixture with Asian and Pacific People. *Curr. Genomics.* 2010; 11:103-14.
67. Arnaiz-Villena A, Vargas-Alarcon G, Granados J, Gomez-Casado E, Longas J, Gonzales-Hevilla M, Zuniga J, Salgado N, Hernandez-Pacheco G, Guillen J, Martinez-Laso J. HLA genes in Mexican Mazatecans, the peopling of the

- Americas and the uniqueness of Amerindians. *Tissue Antigens*. 2000; 56:405-16.
68. Cavalli-Sforza LL, Menozzi P, Piazza A. The history and geography of human genes Princeton: Princeton University Press. 1994.
69. Early E. The history atlas of South America. New York: 1998.
70. Greenberg JH, Turner CG, Zegura SL. The settlement of the Americas: a comparison of the linguistic, dental and genetic evidence. *Curr. Anthropol*. 1986; 27:477-98.
71. Castano AR, Lopez de Castro JA. Structure of the HLA-A*0204 antigen, found in South American Indians. Spatial clustering of HLA-A2 subtype polymorphism. *Immunogenetics*. 1991; 34:281-5.
72. Belich MP, Madrigal JA, Hildebrand WH, Zemmour J, Williams RC, Luz R, Petzl-Erler ML, Parham P. Unusual HLA-B alleles in two tribes of Brazilian Indians. *Nature*. 1992; 357:326-9.
73. Leon-S FE, Ariza-Deleon A, Ariza-Caicedo A. HLA, trans-Pacific contacts, and retrovirus. *Hum Immunol*. 1995; 42:348-50.
74. Leon-S FE, Ariza-Deleon A, Leon-S ME, Ariza C. Peopling the Americas. *Science*. 1996; 273:723-5.
75. Sonoda S, Li HC, Cartier L, Nunez L, Tajima K. Ancient HTLV type 1 provirus DNA of Andean mummy. *AIDS Res. Hum Retroviruses*. 2000; 16:1753-6.

-
76. Li HC, Fujiyoshi T, Lou H, Yashiki S, Sonoda S, Cartier L, Nunez L, Munoz I, Horai S, Tajima K. The presence of ancient human T-cell lymphotropic virus type I provirus DNA in an Andean mummy. *Nat.Med.* 1999; 5:1428-32.
 77. Holden C. Were Spaniards among the first Americans? *Science.* 1999; 286:1467-8.
 78. Sanchez-Mazas A, Fernandez-Vina M, Middleton D, Hollenbach JA, Buhler S, Di D, Rajalingam R, Dugoujon JM, Mack SJ, Thorsby E. Immunogenetics as a tool in anthropological studies. *Immunology.* 2011; 133:143-64.
 79. Underhill PA, Kivisild T. Use of Y chromosome and mitochondrial DNA population structure in tracing human migrations. *Annu.Rev.Genet.* 2007; 41:539-64.
 80. Brown WM, Wright JW. Mitochondrial DNA analyses and the origin and relative age of parthenogenetic lizards (genus *Cnemidophorus*). *Science.* 1979; 203:1247-9.
 81. Anderson S, Bankier AT, Barrell BG, de Bruijn MH, Coulson AR, Drouin J, Eperon IC, Nierlich DP, Roe BA, Sanger F, Schreier PH, Smith AJ, Staden R, Young IG. Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature.* 1981; 290:457-65.
 82. Wallace DC, Shoffner JM, Trounce I, Brown MD, Ballinger SW, Corral-Debrinski M, Horton T, Jun AS, Lott MT. Mitochondrial DNA mutations in human degenerative diseases and aging. *Biochim.Biophys.Acta.* 1995; 1271:141-51.

83. Cann RL, Stoneking M, Wilson AC. Mitochondrial DNA and human evolution. *Nature*. 1987; 325:31-6.
84. Horai S, Kondo R, Nakagawa-Hattori Y, Hayashi S, Sonoda S, Tajima K. Peopling of the Americas, founded by four major lineages of mitochondrial DNA. *Mol.Biol.Evol.* 1993; 10:23-47.
85. Schurr TG. A molecular Anthropological perspective on the peopling of the Americas. *Athena Review*. 2002; 3:62-107.
86. Mulligan CJ, Hunley K, Cole S, Long JC. Population genetics, history, and health patterns in native americans. *Annu.Rev.Genomics Hum.Genet.* 2004; 5:295-315.
87. Vigilant L, Stoneking M, Harpending H, Hawkes K, Wilson AC. African populations and the evolution of human mitochondrial DNA. *Science*. 1991; 253:1503-7.
88. Merriwether DA, Clark AG, Ballinger SW, Schurr TG, Soodyall H, Jenkins T, Sherry ST, Wallace DC. The structure of human mitochondrial DNA variation. *J.Mol.Evol.* 1991; 33:543-55.
89. Merriwether DA, Hall WW, Vahlne A, Ferrell RE. mtDNA variation indicates Mongolia may have been the source for the founding population for the New World. *Am.J.Hum.Genet.* 1996; 59:204-12.
90. Rodriguez-Delfin LA, Rubin-de-Celis VE, Zago MA. Genetic diversity in an Andean population from Peru and regional migration patterns of Amerindians in South

- America: data from Y chromosome and mitochondrial DNA. *Hum.Hered.* 2001; 51:97-106.
91. Torroni A, Sukernik RI, Schurr TG, Starikorskaya YB, Cabell MF, Crawford MH, Comuzzie AG,Wallace DC. mtDNA variation of aboriginal Siberians reveals distinct genetic affinities with Native Americans. *Am.J.Hum.Genet.* 1993; 53:591-608.
92. Stone AC,Stoneking M. Genetic analyses of an 8000 Year-Old Native American Skeleton. *Ancient biomolecules.* 1996; 1:83-8.
93. Malhi RS,Smith DG. Brief communication: Haplogroup X confirmed in prehistoric North America. *Am.J.Phys.Anthropol.* 2002; 119:84-6.
94. Derenko MV, Grzybowski T, Malyarchuk BA, Czarny J, Miscicka-Sliwka D,Zakharov IA. The presence of mitochondrial haplogroup x in Altaians from South Siberia. *Am.J.Hum.Genet.* 2001; 69:237-41.
95. Starikovskaya YB, Sukernik RI, Schurr TG, Kogelnik AM,Wallace DC. mtDNA diversity in Chukchi and Siberian Eskimos: implications for the genetic history of Ancient Beringia and the peopling of the New World. *Am.J.Hum.Genet.* 1998; 63:1473-91.
96. Torroni A, Schurr TG, Cabell MF, Brown MD, Neel JV, Larsen M, Smith DG, Vullo CM,Wallace DC. Asian affinities and continental radiation of the four founding Native American mtDNAs. *Am.J.Hum.Genet.* 1993; 53:563-90.

97. Brown MD, Hosseini SH, Torroni A, Bandelt HJ, Allen JC, Schurr TG, Scozzari R, Cruciani F, Wallace DC. mtDNA haplogroup X: An ancient link between Europe/Western Asia and North America? *Am J Hum Genet.* 1998; 63:1852-61.
98. Santos FR, Rodriguez-Delfin L, Pena SD, Moore J, Weiss KM. North and South Amerindians may have the same major founder Y chromosome haplotype. *Am.J.Hum.Genet.* 1996; 58:1369-70.
99. Jota MS, Lacerda DR, Sandoval JR, Vieira PP, Santos-Lopes SS, Bisso-Machado R, Paixao-Cortes VR, Revollo S, Paz YM, Fujita R, Salzano FM, Bonatto SL, Bortolini MC, Santos FR. A new subhaplogroup of native American Y-Chromosomes from the Andes. *Am.J.Phys.Anthropol.* 2011; 146:553-9.
100. Bertranpetit J. Genome, diversity, and origins: the Y chromosome as a storyteller. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* 2000; 97:6927-9.
101. Ambrosio B, Hernandez C, Novelletto A, Dugoujon JM, Rodriguez JN, Cuesta P, Fortes-Lima C, Calderon R. Searching the peopling of the Iberian Peninsula from the perspective of two andalusian subpopulations: a study based on Y-chromosome haplogroups J and E. *Coll.Antropol.* 2010; 34:1215-28.
102. Crawford MH. *The Origins of Native Americans: evidence from anthropological genetics.* Cambridge: 1998.
103. Santos FR, Pandya A, Tyler-Smith C, Pena SD, Schanfield M, Leonard WR, Osipova L, Crawford MH, Mitchell RJ. The central Siberian origin for native American Y chromosomes. *Am.J.Hum.Genet.* 1999; 64:619-28.

104. Lahr MM, Foley RA. Multiple dispersals and modern human origins. *Evolutionary Anthropology*. 1994; 3:48-60.
105. Forster P, Harding R, Torroni A, Bandelt HJ. Origin and evolution of Native American mtDNA variation: a reappraisal. *Am.J.Hum.Genet.* 1996; 59:935-45.
106. Bonatto SL, Salzano FM. A single and early migration for the peopling of the Americas supported by mitochondrial DNA sequence data. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* 1997; 94:1866-71.
107. Underhill PA, Jin L, Zemans R, Oefner PJ, Cavalli-Sforza LL. A pre-Columbian Y chromosome-specific transition and its implications for human evolutionary history. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* 1996; 93:196-200.
108. Cadavid LF, Watkins DI. Heirs of the jaguar and the anaconda: HLA, conquest and disease in the indigenous populations of the Americas. *Tissue Antigens*. 1997; 50:702-11.
109. Dobbins F. Disease transfer contact. *Annu.Rev.Anthropol.* 1993; 22:273-91.
110. Petzl-Erler ML, Gorodezky C, Layrisse Z. Anthropology report for the Latin-American Region: Amerindian and admixture populations. ed. D.Charron, EDK. Paris: 1997.pp 337-45
111. Parham P, Arnett KL, Adams EJ, Little AM, Tees K, Barber LD, Marsh SG, Ohta T, Markow T, Petzl-Erler ML. Episodic evolution and turnover of HLA-B in the indigenous human populations of the Americas. *Tissue Antigens*. 1997; 50:219-32.

112. Perez-Bravo F, Martinez-Laso J, Martin-Villa JM, Moscoso J, Moreno A, Serrano-Vela JI, Zamora J, Asenjo S, Gleisner A, Arnaiz-Villena A. HLA non-class II genes may confer type I diabetes susceptibility in a mapuche (Amerindian) affected family. *Eur.J.Med.Genet.* 2006; 49:37-41.
113. Bengoa J. Historia de los Antiguos Mapuches del Sur. Desde antes de la llegada de los Españoles hasta las paces de Quilín. 2ª ed. Santiago: Catalonia. 2007.
114. Enciclopedia libre Wikipedia. <http://es.wikipedia.org/wiki/Mapuches>. Mapuches.
115. INDEC Encuesta Complementaria de Pueblos Indígenas (ECPI) 2005
116. Ethnologue Languages of the World. http://www.ethnologue.com/show_language.asp?code=arn. Mapudungun.
117. García F MMVSHHLEAERF. mtDNA microevolution in Southern Chile's archipelagos. *American journal of physical anthropology.* 2006; 129:473-81.
118. Blanco-Verea A, Jaime JC, Brion M, Carracedo A. Y-chromosome lineages in native South American population. *Forensic Sci.Int Genet.* 2010; 4:187-93.
119. Moraga ML, Rocco P, Miquel JF, Nervi F, Llop E, Chakraborty R, Rothhammer F, Carvallo P. Mitochondrial DNA polymorphisms in Chilean aboriginal populations: implications for the peopling of the southern cone of the continent. *Am.J.Phys.Anthropol.* 2000; 113:19-29.

120. Droguett MA OMAPJMSAL. Human leukocyte antigens in indigenous (mapuche) people in a regional renal transplantation program in Chile. Transplantation proceedings. 2005; 37:3367-71.
121. Parolín ML CF. HLA-DRB1 alleles in four Amerindian populations from Argentina and Paraguay. Genetics and molecular biology. 2009; 32:212-9.
122. Cadavid LF, Shufflebotham C, Ruiz FJ, Yeager M, Hughes AL, Watkins DI. Evolutionary instability of the major histocompatibility complex class I loci in New World primates. Proc.Natl.Acad.Sci.USA. 1997; 94:14536-41.
123. Fernandez-Vina MA, Lazaro AM, Marcos CY, Nulf C, Raimondi E, Haas EJ, Stastny P. Dissimilar evolution of B-locus versus A-locus and class II loci of the HLA region in South American Indian tribes. Tissue Antigens. 1997; 50:233-50.
124. Cerna M, Falco M, Friedman H, Raimondi E, Maccagno A, Fernandez-Vina M, Stastny P. Differences in HLA class II alleles of isolated South American Indian populations from Brazil and Argentina. Hum.Immunol. 1993; 37:213-20.
125. Yunis JJ, Ossa H, Salazar M, Delgado MB, Deulofeut R, de la HA, Bing DH, Ramos O, Yunis EJ, Yunis EJ. Major histocompatibility complex class II alleles and haplotypes and blood groups of four Amerindian tribes of northern Colombia. Hum.Immunol. 1994; 41:248-58.
126. Vargas-Alarcon G, Gamboa R, Zuniga J, Hernandez-Pacheco G, Ramos-Kuri M, Castillo E, Gomez-Casado E, Martinez-Laso J, Arnaiz-Villena A, Granados J. HLA-

- DR4 allele frequencies on Indian and Mestizo population from Mexico. *Hum Immunol.* 2000; 61:341-4.
127. Parham P,Ohta T. Population biology of antigen presentation by MHC class I molecules. *Science.* 1996; 272:67-74.
128. Ayala FJ. The myth of Eve: molecular biology and human origins. *Science.* 1995; 270:1930-6.
129. Erlich HA, Zeidler A, Chang J, Shaw S, Raffel LJ, Klitz W, Beshkov Y, Costin G, Pressman S, Bugawan T,. HLA class II alleles and susceptibility and resistance to insulin dependent diabetes mellitus in Mexican-American families. *Nat.Genet.* 1993; 3:358-64.
130. Nepom GT,Kwok WW. Molecular basis for HLA-DQ associations with IDDM. *Diabetes.* 1998; 47:1177-84.
131. Perez-Luque E, Malacara JM, Olivo-Diaz A, Alaez C, Debaz H, Vazquez-Garcia M, Garay ME, Nava LE, Burguete A,Gorodezky C. Contribution of HLA class II genes to end stage renal disease in mexican patients with type 2 diabetes mellitus. *Hum.Immunol.* 2000; 61:1031-8.
132. Swadesh M. Indian linguistic groups of Mexico Mexico DF: Escuela Nacional de Antropologia e Historia. 1959.
133. Ruhlen M. A guide of the world's languages. I Classification. London: Edward Arnold. 1991.

134. Arnaiz-Villena A, Dimitroski K, Pachó A, Moscoso J, Gómez-Casado E, Silvera-Redondo C, Varela P, Blagoevska M, Zdravkovska V, Martínez-Laso J. HLA genes in Macedonians and the sub-Saharan origin of the Greeks. *Tissue Antigens*. 2001; 57:118-27.
135. Geng L, Imanishi T, Tokunaga K, Zhu D, Mizuki N, Xu S, Geng Z, Gojobori T, Tsuji K, Inoko H. Determination of HLA class II alleles by genotyping in a Manchu population in the northern part of China and its relationship with Han and Japanese populations. *Tissue Antigens*. 1995; 46:111-6.
136. Monsalve MV, Edin G, Devine DV. Analysis of HLA class I and class II in Na-Dene and Amerindian populations from British Columbia, Canada. *Hum. Immunol*. 1998; 59:48-55.
137. Arnaiz-Villena A, Siles N, Moscoso J, Zamora J, Serrano-Vela JI, Gómez-Casado E, Castro MJ, Martínez-Laso J. Origin of Aymaras from Bolivia and their relationship with other Amerindians according to HLA genes. *Tissue Antigens*. 2005; 65:379-90.
138. Gómez-Casado E, Martínez-Laso J, Moscoso J, Zamora J, Martín-Villa M, Pérez-Blas M, López-Santalla M, Lucas GP, Silvera C, Lowy E, Arnaiz-Villena A. Origin of Mayans according to HLA genes and the uniqueness of Amerindians. *Tissue Antigens*. 2003; 61:425-36.
139. Izaabel H, Garchon HJ, Caillat-Zucman S, Beaurain G, Akhayat O, Bach JF, Sánchez-Mazas A. HLA class II DNA polymorphism in a Moroccan population from the Souss, Agadir area. *Tissue Antigens*. 1998; 51:106-10.

140. Arnaiz-Villena A, Moscoso J, Granados J, Serrano-Vela JI, de la Peña A, Reguera R, Ferri A, Seclen E, Izaguirre R, Perez-Hernandez N, Vargas-Alarcon G. HLA genes in Mayos population from Northeast Mexico. *Mol.Immunol.* 2007;
141. Titus-Trachtenberg EA, Rickards O, De Stefano GF, Erlich HA. Analysis of HLA class II haplotypes in the Cayapa Indians of Ecuador: a novel DRB1 allele reveals evidence for convergent evolution and balancing selection at position 86. *Am.J.Hum.Genet.* 1994; 55:160-7.
142. Grahovac B, Sukernik RI, O'hUigin C, Zaleska-Rutczynska Z, Blagitko N, Raldugina O, Kosutic T, Satta Y, Figueroa F, Takahata N, Klein J. Polymorphism of the HLA class II loci in Siberian populations. *Hum.Genet.* 1998; 102:27-43.
143. Munkhbat B, Sato T, Hagihara M, Sato K, Kimura A, Munkhtuvshin N, Tsuji K. Molecular analysis of HLA polymorphism in Khoton-Mongolians. *Tissue Antigens.* 1997; 50:124-34.
144. Arnaiz-Villena A, Martinez-Laso J, Moscoso J, Livshits G, Zamora J, Gomez-Casado E, Silvera-Redondo C, Melvin K, Crawford MH. HLA genes in the Chuvashian population from European Russia: admixture of Central European and Mediterranean populations. *Hum.Biol.* 2003; 75:375-92.
145. Vargas-Alarcon G, Moscoso J, Martinez-Laso J, Rodriguez-Perez JM, Flores-Dominguez C, Serrano-Vela JI, Moreno A, Granados J, Arnaiz-Villena A. Origin of Mexican Nahuas (Aztecs) according to HLA genes and their relationships with worldwide populations. *Mol.Immunol.* 2007; 44:747-55.

146. Arnaiz-Villena A, Iliakis P, Gonzalez-Hevilla M, Longas J, Gomez-Casado E, Sfyridaki K, Trapaga J, Silvera-Redondo C, Matsouka C, Martinez-Laso J. The origin of Cretan populations as determined by characterization of HLA alleles. *Tissue Antigens*. 1999; 53:213-26.
147. Martinez-Laso J, Siles N, Moscoso J, Zamora J, Serrano-Vela JI, Ira-Cachafeiro J, Castro MJ, Serrano-Rios M, Arnaiz-Villena A. Origin of Bolivian Quechua Amerindians: their relationship with other American Indians and Asians according to HLA genes. *Eur.J.Med.Genet*. 2006; 49:169-85.
148. Kapustin S, Lyshchov A, Alexandrova J, Imyanitov E, Blinov M. HLA class II molecular polymorphisms in healthy Slavic individuals from North-Western Russia. *Tissue Antigens*. 1999; 54:517-20.
149. Leffell MS, Fallin MD, Hildebrand WH, Cavett JW, Iglehart BA, Zachary AA. HLA alleles and haplotypes among the Lakota Sioux: report of the ASHI minority workshops, part III. *Hum.Immunol*. 2004; 65:78-89.
150. Garcia-Ortiz JE, Sandoval-Ramirez L, Rangel-Villalobos H, Maldonado-Torres H, Cox S, Garcia-Sepulveda CA, Figuera LE, Marsh SG, Little AM, Madrigal JA, Moscoso J, Arnaiz-Villena A, Arguello JR. High-resolution molecular characterization of the HLA class I and class II in the Tarahumara Amerindian population. *Tissue Antigens*. 2006; 68:135-46.
151. Lazaro AM, Moraes ME, Marcos CY, Moraes JR, Fernandez-Vina MA, Stastny P. Evolution of HLA-class I compared to HLA-class II polymorphism in Terena, a South-American Indian tribe. *Hum.Immunol*. 1999; 60:1138-49.

152. Martinez-Laso J, Montoya F, Areces C, Moscoso J, Silvera C, Rey D, Parga-Lozano C, Gomez-Prieto P, Enriquez dS, Arnaiz-Villena A. HLA in Jaidukama: an Amerindian secluded Colombian population with new haplotypes and Asian and Pacific-shared alleles. *Mol Biol Rep.* 2010;
153. Martinez-Laso J, Gazit E, Gomez-Casado E, Morales P, Martinez-Quiles N, Alvarez M, Martin-Villa JM, Fernandez V, Arnaiz-Villena A. HLA DR and DQ polymorphism in Ashkenazi and non-Ashkenazi Jews: comparison with other Mediterraneans. *Tissue Antigens.* 1996; 47:63-71.
154. Roitberg-Tambur A, Witt CS, Friedmann A, Safirman C, Sherman L, Battat S, Nelken D, Brautbar C. Comparative analysis of HLA polymorphism at the serologic and molecular level in Moroccan and Ashkenazi Jews. *Tissue Antigens.* 1995; 46:104-10.
155. Martinez-Laso J, Sartakova M, Allende L, Konenkov V, Moscoso J, Silvera-Redondo C, Pacho A, Trapaga J, Gomez-Casado E, Arnaiz-Villena A. HLA molecular markers in Tuvinians: a population with both Oriental and Caucasoid characteristics. *Ann.Hum.Genet.* 2001; 65:245-61.
156. Arnaiz-Villena A, Gonzalez-Alcos V, Serrano-Vela JI, Reguera R, Barbolla L, Parga-Lozano C, Gomez-Prieto P, Abd-El-Fatah-Khalil S, Moscoso J. HLA genes in Uros from Titikaka Lake, Peru: origin and relationship with other Amerindians and worldwide populations. *Int J Immunogenet.* 2009; 36:159-67.

157. Silvera C, Vargas-Alarcon G, Areces C, Rey D, Parga-Lozano C, Gomez-Prieto P, Barbolla L, Martinez-Laso J, Arnaiz-Villena A. HLA genes in Wayu Amerindians from Colombia. *Immunol Invest*. 2011; 40:92-100.
158. Moscoso J, Seclen S, Serrano-Vela JI, Villena A, Martinez-Laso J, Zamora J, Moreno A, Ira-Cachafeiro J, Arnaiz-Villena A. HLA genes in Lamas Peruvian-Amazonian Amerindians. *Mol Immunol*. 2006; 43:1881-9.
159. Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. *Molecular cloning: a laboratory manual* New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press. 1989.
160. Itoh Y, Mizuki N, Shimada T, Azuma F, Itakura M, Kashiwase K, Kikkawa E, Kulski JK, Satake M, Inoko H. High-throughput DNA typing of HLA-A, -B, -C, and -DRB1 loci by a PCR-SSOP-Luminex method in the Japanese population. *Immunogenetics*. 2005; 57:717-29.
161. Arnaiz-Villena A, Timon M, Corell A, Perez-Aciego P, Martin-Villa JM, Regueiro JR. Primary immunodeficiency caused by mutations in the gene encoding the CD3-gamma subunit of the T-lymphocyte receptor. *N.Engl.J.Med*. 1992; 327:529-33.
162. S. Schneider, D. Roessli, and L. Excoffier. *ARLEQUIN: a software for population genetics database analysis*. [2.0]. 2000. Genetics and Biometry Laboratories, Department of Anthropology, University of Geneva.

Ref Type: Computer Program

163. Imanishi T, Akaza T, Kimura A, Tokunaga K, Gojobori T. Estimation of allele and haplotype frequencies for HLA and complement loci. In HLA 1991. eds. K.Tsuji, M.Aizawa, and T.Sasazuki, Oxford University Press. Oxford: 1992.pp 76-9
164. Saitou N, Nei M. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol.Biol.Evol.* 1987; 4:406-25.
165. Nei M. Genetic distances between populations. *Am.Nat.* 1972; 106:283.
166. Nei M. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA.* 1973; 70:3321-3.
167. Nei M, Tajima F, Tateno Y. Accuracy of estimated phylogenetic trees from molecular data. II. Gene frequency data. *J.Mol.Evol.* 1983; 19:153-70.
168. Young FW, Bann CM. A visual statistics system. In *Statistical Computing Environments for Social Researches*. eds. R.A.Stine and J.Fox, Sage Publications. London: 1996.pp 207-36
169. Ferrara GB, Delfino L, Longo A, Morabito A, Parodi A. HLA-A, -B, -Cw, -DPB1, -DQA1, -DQB1 and -DRB1 Alleles in a population from North Italy. *Hum Immunol.* 2004; 65:982-7.
170. Bannai M, Tokunaga K, Imanishi T, Harihara S, Fujisawa K, Juji T, Omoto K. HLA class II alleles in Ainu living in Hidaka District, Hokkaido, northern Japan. *Am.J.Phys.Anthropol.* 1996; 101:1-9.

171. Dunne C, Crowley J, Hagan R, Rooney G, Lawlor E. HLA-A, B, Cw, DRB1, DQB1 and DPB1 alleles and haplotypes in the genetically homogenous Irish population. *Int.J Immunogenet.* 2008; 35:295-302.
172. Nowak J, Mika-Witkowska R, Polak M, Zajko M, Rogatko-Koros M, Graczyk-Pol E, Lange A. Allele and extended haplotype polymorphism of HLA-A, -C, -B, -DRB1 and -DQB1 loci in Polish population and genetic affinities to other populations. *Tissue Antigens.* 2008; 71:193-205.
173. Fernandez-Vina MA, Gao XJ, Moraes ME, Moraes JR, Salatiel I, Miller S, Tsai J, Sun YP, An JB, Layrisse Z. Alleles at four HLA class II loci determined by oligonucleotide hybridization and their associations in five ethnic groups. *Immunogenetics.* 1991; 34:299-312.
174. Vargas-Alarcon G, Hernandez-Pacheco G, Moscoso J, Perez-Hernandez N, Murguia LE, Moreno A, Serrano-Vela JI, Granados J, Arnaiz-Villena A. HLA genes in Mexican Teeneks: HLA genetic relationship with other worldwide populations. *Mol Immunol.* 2006; 43:790-9.
175. Johansson A, Ingman M, Mack SJ, Erlich H, Gyllensten U. Genetic origin of the Swedish Sami inferred from HLA class I and class II allele frequencies. *Eur.J Hum Genet.* 2008; 16:1341-9.
176. Ivanova M, Rozemuller E, Tyufekchiev N, Michailova A, Tilanus M, Naumova E. HLA polymorphism in Bulgarians defined by high-resolution typing methods in comparison with other populations. *Tissue Antigens.* 2002; 60:496-504.

177. Chu CC, Lin M, Nakajima F, Lee HL, Chang SL, Juji T, Tokunaga K. Diversity of HLA among Taiwan's indigenous tribes and the Ivatans in the Philippines. *Tissue Antigens*. 2001; 58:9-18.
178. Layrisse Z, Guedez Y, Dominguez E, Paz N, Montagnani S, Matos M, Herrera F, Ogando V, Balbas O, Rodriguez-Larralde A. Extended HLA haplotypes in a Carib Amerindian population: the Yucpa of the Perija Range. *Hum Immunol*. 2001; 62:992-1000.
179. Velickovic ZM, Delahunt B, Carter JM. HLA-DRB1 and HLA-DQB1 polymorphisms in Pacific Islands populations. *Tissue Antigens*. 2002; 59:397-406.
180. Jinam TA, Saitou N, Edo J, Mahmood A, Phipps ME. Molecular analysis of HLA Class I and Class II genes in four indigenous Malaysian populations. *Tissue Antigens*. 2010; 75:151-8.
181. Sanchez-Velasco P, Gomez-Casado E, Martinez-Laso J, Moscoso J, Zamora J, Lowy E, Silvera C, Cemborain A, Leyva-Cobian F, Arnaiz-Villena A. HLA alleles in isolated populations from North Spain: Origin of the Basques and the ancient Iberians. *Tissue Antigens*. 2003; 61:384-92.
182. Al Hussein KA, Rama NR, Butt AI, Meyer B, Rozemuller E, Tilanus MG. HLA class II sequence-based typing in normal Saudi individuals. *Tissue Antigens*. 2002; 60:259-61.

183. Mahjoub S, Mehri S, Ghazouani E, Ouarda F, Boussada R, Zaroui A, Mechmeche R, Hammami M, Ben Arab S. HLA class II polymorphisms in Tunisian patients with dilated cardiomyopathy. *Tissue Antigens*. 2010; 75:679-83.
184. Ramos M, Postigo JM, Vilches C, Layrisse Z, Lopez de Castro JA. Primary structure of a novel HLA-B39 allele (B*3909) from the Warao Indians of Venezuela. Further evidence for local HLA-B diversification in South America. *Tissue Antigens*. 1995; 46:401-4.
185. Leffell MS, Fallin MD, Erlich HA, Fernandez-Vijna M, Hildebrand WH, Mack SJ, Zachary AA. HLA antigens, alleles and haplotypes among the Yup'ik Alaska natives: report of the ASHI Minority Workshops, Part II. *Hum. Immunol*. 2002; 63:614-25.
186. Croese-Mijesen R. Evidencias Léxicas y Gramaticales para una Posible Filiación del Mapudungun con la Familia Arawak. In *Acta Del VIII Congreso Internacional De La Asociación Lingüística y Filología De América Latina 1999*. pp 387-90
187. Steele J, Kandler A. Language trees not equal gene trees. *Theory. Biosci*. 2010; 129:223-33.
188. Greenhill SJ, Atkinson QD, Meade A, Gray RD. The shape and tempo of language evolution. *Proc. Biol. Sci*. 2010; 277:2443-50.
189. Dillehay TD. Monte Verde: A late Pleistocene settlement in Chile. Washington DC: Smithsonian Institution Press. 1997.
190. Gibbons A. 150th Bash Draws and Crowd. *Science*. 1998; 279:1306-7.

191. Gomez-Casado E, del Moral P, Martinez-Laso J, Garcia-Gomez A, Allende L, Silvera-Redondo C, Longas J, Gonzalez-Hevilla M, Kandil M, Zamora J, Arnaiz-Villena A. HLA genes in Arabic-speaking Moroccans: close relatedness to Berbers and Iberians. *Tissue Antigens*. 2000; 55:239-49.
192. Trachtenberg EA, Keyeux G, Bernal JE, Rhodas MC, Erlich HA. Results of Expedition Humana. I. Analysis of HLA class II (DRB1-DQA1-DPB1) alleles and DR-DQ haplotypes in nine Amerindian populations from Colombia. *Tissue Antigens*. 1996; 48:174-81.
193. Ayed K, Ayed-Jendoubi S, Sfar I, Labonne MP, Gebuhrer L. HLA class-I and HLA class-II phenotypic, gene and haplotypic frequencies in Tunisians by using molecular typing data. *Tissue Antigens*. 2004; 64:520-32.
194. Moscoso J, Crawford MH, Vicario JL, Zlojutro M, Serrano-Vela JL, Reguera R, Arnaiz-Villena A. HLA genes of Aleutian Islanders living between Alaska (USA) and Kamchatka (Russia) suggest a possible southern Siberia origin. *Mol.Immunol*. 2008; 45:1018-26.
195. Droguett MA, Beltran R, Ardiles R, Raddatz N, Labrana C, Arenas A, Flores J, Alruiz P, Mezzano S, Ardiles L. Ethnic differences in HLA antigens in Chilean donors and recipients: data from the National Renal Transplantation Program. *Transplant.Proc*. 2008; 40:3247-50.
196. Parga-Lozano C, Rey-Medrano D, Gomez-Prieto P, Areces C, Moscoso J, Abd-El-Fatah-Khalil S, Moreno E, Arnaiz-Villena A. HLA genes in Amerindian immigrants

- to Madrid (Spain): epidemiology and a virtual transplantation waiting list : Amerindians in Madrid (Spain). *Mol Biol Rep.* 2010;
197. Ardiles R, Beltran R, Jerez V, Droguett MA, Mezzano S, Ardiles L. Renal transplantation in Mapuche people. *Transplant.Proc.* 2008; 40:726-8.
198. Davies SM, Shu XO, Blazar BR, Filipovich AH, Kersey JH, Krivit W, McCullough J, Miller WJ, Ramsay NK, Segall M,. Unrelated donor bone marrow transplantation: influence of HLA A and B incompatibility on outcome. *Blood.* 1995; 86:1636-42.
199. Coates PT, Calvin BL, Morelli AE, Wang E, Nall M, Duncan FJ. Growth factor-mobilized immature renal dendritic cells prolong murine cardiac allograft survival. In *Immunobiology of Human MHC. Proceedings of the 13th International Histocompatibility Workshop and Conference.* ed. John A Hansen, IHWG press. Seattle: 2006.
200. Süsal C, Pelz S, Opelz G. Relationship between kidney graft rejection and pretransplant anti-HLA antibody status and serum CD30 content a collaborative transplant study report. In *Immunobiology of Human MHC. Proceedings of the 13th International Histocompatibility Workshop and Conference.* ed. John A Hansen, IHWG press. Seattle: 2006.
201. Vicario JL, Martinez-Laso J, Corell A, Martin-Villa JM, Morales P, Lledo G, Segurado OG, de Juan D, Arnaiz-Villena A. Comparison between HLA-DRB and DQ DNA sequences and classic serological markers as type 1 (insulin-

- dependent) diabetes mellitus predictive risk markers in the Spanish population. *Diabetologia*. 1992; 35:475-81.
202. Gonzalez-Roces S, Alvarez MV, Gonzalez S, Dieye A, Makni H, Woodfield DG, Housan L, Konenkov V, Abbadi MC, Grunnet N, Coto E, Lopez-Larrea C. HLA-B27 polymorphism and worldwide susceptibility to ankylosing spondylitis. *Tissue Antigens*. 1997; 49:116-23.
203. de Juan MD, Belmonte I, Barado J, Martinez LJ, Figueroa M, Arnaiz-Villena A, Cuadrado E. Differential associations of HLA-DR antigens with rheumatoid arthritis (RA) in Basques: high frequency of DR1 and DR10 and lack of association with HLA-DR4 or any of its subtypes. *Tissue Antigens*. 1994; 43:320-3.
204. Crawford H, Lumm W, Leslie A, Schaefer M, Boeras D, Prado JG, Tang J, Farmer P, Ndung'u T, Lakhi S, Gilmour J, Goepfert P, Walker BD, Kaslow R, Mulenga J, Allen S, Goulder PJ, Hunter E. Evolution of HLA-B*5703 HIV-1 escape mutations in HLA-B*5703-positive individuals and their transmission recipients. *J Exp. Med*. 2009; 206:909-21.

ANEXOS**Anexo 1: Curriculum Vitae****DATOS PERSONALES**

NOMBRES Y APELLIDOS : Carlos Hernando Parga Lozano

ESTUDIOS REALIZADOS

+ **Química y Farmacia.**

Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas Universidad de Cartagena. 1997

✓ ***Trabajo de Grado***

Contribución al estudio de la contaminación por hidrocarburos en Sedimentos y organismos de la Bahía de Cartagena.

+ **Maestría en Inmunología**

Instituto de Investigaciones Inmunológicas. Universidad de Cartagena 2000

✓ ***Tesis de Grado***

Caracterización de la respuesta proliferativa de células mononucleares de sangre periférica contra el alérgeno recombinante BtM del ácaro del polvo casero *Blomia tropicalis*.

+ **Doctorado en Inmunología**

Universidad Complutense de Madrid. Cursándolo en la actualidad Hasta el 2011.

✓ ***Tesis de Grado***

El origen de los Mapuches y su relación con otros Amerindios según los genes HLA

+ **Diplomado Formación Pedagógica Para la Educación Superior**

Departamento de Postgrado y Educación Continua. Universidad de Cartagena. 2003

✓ **Trabajo final**

La Investigación como Eje Formativo y de Desarrollo en el Estudiante de la Universidad de Cartagena

✓ **Diplomado en Investigación Epidemiológica en el Área Clínica**

Universidad del Sinú Seccional Cartagena 2004.

EXPERIENCIA INVESTIGATIVA

- Inmunogenética e Inmunología de las Mucosas 2008-2011. Universidad Complutense de Madrid. Departamento de Microbiología I. Área de Inmunología. Centro de Transfusión de la Comunidad de Madrid.

DISTINCIONES



Colaborador en Docencia Práctica del Departamento de Microbiología I 2009/2010 Carácter Honorífico, Universidad Complutense De Madrid – Febrero de 2010

PUBLICACIONES












Arnaiz-Villena A, Fernández-Honrado M, Areces C, Arribas I, Coca C, Enriquez-de-Salamanca M, Parga-Lozano C, Abd-El-Fatah S, Rey D. Amerindians normalized waist circumference and obesity diagnosis standardized by biochemical and HLA data. Mol Biol Rep. 2011 Nov 12. In PubMed






















Longás J, Martínez-Laso J, Rey D, Areces C, Casado EG, Parga-Lozano C, Luna F, de Salamanca ME, Moral P, Arnaiz-Villena A. Las Alpujarras region (South East Spain) HLA genes study: evidence of a probable success of 17th century repopulation from North Spain. Mol Biol Rep. 2011 Jun 3. In press. In PubMed.




Arnaiz Villena A, Abd-el-Fatah S, Granados Silvestre M, Parga Lozano C, Gomez Prieto P, Rey D, Areces C, Peñaranda P, Menjivar M, Rodriguez Perez J, Granados J, Vargas Alarcón G. Human Leukocyte Antigen-DRB1 Class II Genes in Mexican Amerindian Mazahuas: Genes and Languages Do Not Correlate Genetic Testing And Molecular Biomarkers. 2011;15(1-2):97-102. Pub Med.


-  Silvera C, Vargas-Alarcon G, Areces C, Rey D, Parga-Lozano C, Gomez-Prieto P, Barbolla L, Martinez-Laso J, Arnaiz-Villena A. HLA genes in Wayu Amerindians from Colombia. *Immunological Investigations*. 2011;40(1):92-100 . Pub Med.
-  Rey D, Areces C, Parga Lozano C, Gomez Prieto P, Crawford M, Arnaiz Villena A. HLA Genes in Populations of the Aleutian Islands. *Human Biology*. 2010;82(5-6):737 - 744 .
-  Arnaiz Villena A, Gomez Prieto P, Parga Lozano C, Rey D, Areces C, Ruiz-del-Valle V. Phylogenetic description of the three North American *Carduelis* radiations. XX Congreso Español de Ornitología. Lleida, España, 2010.
-  Arnaiz Villena A, Gomez Prieto P, Parga Lozano C, Rey D, Areces C, Ruiz-del-Valle V. Mitochondrial DNA phylogenetic definition of a group of 'arid-zone' *Carduelini* finches. XX Congreso Español de Ornitología. Lleida, España, 2010.
-  Arnaiz Villena A, Gomez Prieto P, Parga Lozano C, Rey D, Areces C, Ruiz-del-Valle V. Estrildinae finches (aves, passeriformes) from Africa, South Asia and Australia: a molecular phylogeographic study. XX Congreso Español de Ornitología. Lleida, España, 2010.
-  Arnaiz Villena A, Ruiz-del-Valle V, Reche P, Gomez Prieto P, Lowry E, Zamora J, Areces C, Rey D, Parga Lozano C, Serrano Vela J. Songbirds Conserved Sites and Intron Size of MHC Class I Molecules Reveal a Unique Evolution in Vertebrates. *The Open Ornithology Journal*. 2010;3(1):156 – 165.
-  Martínez Laso J, Montoya F, Areces C, Moscoso J, Silvera C, Rey D, Parga Lozano C, Gómez Prieto P, Enriquez de Salamanca M, Arnaiz Villena A. "HLA in Jaidukama: an Amerindian secluded Colombian population with new haplotypes and Asian and Pacific-shared alleles". *Molecular Biology Reports*. 2010;1(1):1 - . Pub Med.
-  Parga-Lozano C, Rey-Medrano D, Gomez-Prieto P, Areces C, Moscoso J, Abd-el-Fatah S, Moreno E, Arnaiz-Villena A. HLA genes in Amerindian immigrants to Madrid (Spain): epidemiology and a virtual transplantation waiting list Amerindians in Madrid (Spain). *Molecular Biology Reports*. 2010;1(1):1 - . Pub Med.
-  Arnaiz-Villena A, Parga-Lozano C, Abd-el-fatah S, Rey D, Gomez-Prieto P. HLA genes in Uros, an ancient reed-floating island living people from Lake Titikaka (Peru), reveal a complex peopling of Americas. *American Journal Of Human Biology*. 2010;22(2):245-246.


-  Arnaiz-Villena A, Reguera R, Parga-Lozano C, Gomez-Prieto P, Silvera C. HLA genes in Afro American Colombians (San Basilio de Palenque): The first free Africans in America. *American Journal Of Physical Anthropology*. 2010;141(S50) :57 – 57.
-  Arnaiz-Villena A, Martinez-Laso J, Martin-Villa J, Rey D, Gomez-Prieto P, Parga-Lozano C. HLA-B35-CW4 Aumenta Tanto la Transmisión Vertical del VIH Como su Progresión. *Inmunologia*. 2010;29(1):93.
-  Arnaiz-Villena, Gomez-Prieto P, Parga-Lozano C, Areces C, Rey D, Penaranda P, Barbolla L. Diferencias Genéticas de HLA Entre Amerindios, Na-Dene, Eskimo y Aleutianos Americanos. *Inmunologia*. 2010;29(1):97.
-  Arnaiz-Villena A, Rey D, Gomez-Prieto P, Abd-el-fatah S, Peñaranda P, Areces C, Parga-Lozano C. La Variabilidad de los Intrones de Complejo Mayor de Histocompatibilidad en Aves Cantoras (Passerines) Sugieren que el Alelismo es Generado por Conversión Génica. *Inmunologia*. 2010;29(1):97.
-  Arnaiz-Villena, Rey D, Gomez-Prieto P, Abd-el-fatah S, Peñaranda P, Areces C, Parga-Lozano C. Evolución del Complejo Mayor de Histocompatibilidad -C, -G y Receptores "Natural Killer" en Primates. *Inmunologia*. 2010;29(1):97.
-  Arnaiz-Villena, Gomez-Prieto P, Rey D, Areces C, Barbolla L, Peñaranda P, Parga-Lozano C. Los Primeros Habitantes de América (Amerindios) Tienen Genes HLA Comunes con Aborígenes Australianos, Poblaciones de las Islas del Pacífico y con Otras Poblaciones Asiáticas. *Inmunologia*. 2010;29(1):98.
-  Arnaiz-Villena A, Areces C, Gomez-Prieto P, Parga Lozano C, Moreno E, Abd-el-fatah S, Rey D. The peopling of the Americas: a complex issue for Amerindian, Na-Dene, Aleut and Eskimo first inhabitants. *International Journal of Modern Anthropology*. 2010;3(3):65-79.
-  Vargas Alarcon G., Granados J., Rodriguez Perez J., Parga Lozano C., Perez Hernandez N., Rey D., Zuniga J., Arnaiz Villena A. "Distribution of HLA Class II Alleles and Haplotypes in Mexican Mestizo Population: Comparison with Other Populations". *Immunological Investigations* . 2010;39(3):268-283. Pub Med.
-  Arnaiz Villena A., Parga Lozano C., Moreno E., Areces C., Rey D., Gomez Prieto P. "The Origin of Amerindians and the Peopling of the Americas According to HLA Genes: Admixture with Asian and Pacific People". *Curr Genomics* 2010;11(2):103-114. Pub Med.


-  Martínez Quiles N., Martínez Laso J., Martín Villa JM., Rey D., Gómez Prieto P., Parga Lozano C., Arnaiz Villena A. "HLA-B35-Cw4 Increases Both Vertical HIV Transmission and Progression". *Tissue Antigens*. 2010;75(5):625-625.
-  Gómez Prieto P., Parga Lozano C., Rey D., Abd-el-Fatah S., Penaranda P., Barbolla L., Arnaiz Villena A. "Major Histocompatibility Introns Variability in Wild Songbirds (Passerines) Suggests That Allelism is Generated by Gene Conversion". *Tissue Antigens*. 2010;75(5):516-516.
-  Parga Lozano C, Rey D., Gómez Prieto P., Abd-el-Fatah S., Penaranda P., Areces C., Arnaiz Villena A. "Evolution of Major Histocompatibility Complex G and C and Natural Killer Receptors in Primates". *Tissue Antigens*. 2010;75(5):516-516.
-  Parga Lozano C., Gómez Prieto P., Rey D., Areces C., Barbolla L., Abd-el-Fatah S., Penaranda P., Arnaiz Villena A. "America First Inhabitants (Amerindians) Show HLA Gene Flow With Australian Aborigines, Other Pacific Islanders and Asian Populations". *Tissue Antigens*. 2010;75(5):499-500.
-  Rey D., Gómez Prieto P., Parga Lozano C., Areces C., Penaranda P., Barbolla L., Arnaiz Villena A. "Genetic HLA Differences Between American Amerindians Na Dene, Eskimo and Aleuts". *Tissue Antigens*. 2010;75(5):499-499.
-  Ruiz-del-Valle V., Gómez Prieto P., Parga Lozano C., Rey D., Areces C., Arnaiz Villena A. "Phylogenetic Description of the Three North American *Carduelis* Radiations". Congress COS-AOU 2010 San Diego. Estados Unidos. 2010; p.82.
-  Arnaiz Villena A., Ruiz-del-Valle V., Parga Lozano C., Areces C., Rey D., Gómez Prieto P. "Mitochondrial DNA Phylogenetic Definition of a Group of 'Arid-Zone' *Carduelini finches*". Congress COS-AOU 2010 San Diego. Estados Unidos. 2010; p.4.
-  Arnaiz Villena A., Ruiz-del-Valle V., Parga Lozano C., Rey D., Areces C., Gómez Prieto P. "Estrildinae Finches (Aves, Passeriformes) From Africa, South Asia and Australia: a Molecular Phylogeographic Study". Congress COS-AOU-SCO 2010 San Diego. Estados Unidos. 2010; p.4.
-  Parga-Lozano C, Reguera R, Gómez-Prieto P, Arnaiz-Villena A. "Evolution of MHC-G, MHC-C and NK KIR receptors in Primates". *Human Immunology*. 2009;70(12):1035-1040. Pub Med.
-  Silvera C, Reguera R, Abd-El-Fatah S, Monleon L, Barbolla L, Gómez-Prieto P, Parga-Lozano C, Arnaiz-Villena A. HLA Genes in Afro-American Colombians (San


Basilio de Palenque): the First Free Africans in America. The Open Immunology Journal. 2009. 2:59-66


 Arnaiz-Villena A, Vargas-Alarcon G, Reguera R, Gomez-Prieto P, Barbolla L, Monleon L, Parga-Lozano C. HLA genes in Uros from Titikaka Lake, Peru: origin and relationship with other Amerindians and worldwide populations. International Immunology. 2009. 36(3):159-167. Pub Med.


 Arnaiz-Villena A, Ruiz-del-Valle V, Gómez-Prieto P, Reguera R, Parga-Lozano C, Serrano-Vela J.I. "Estrildinae Finches (Aves, Passeriformes) from Africa, South Asia and Australia: a Molecular Phylogeographic Study". The Open Ornithology Journal. 2009; 2(2): 29 – 36.


 Arnaiz-Villena A, Reguera R, Meenagh A, Moscoso J, Gomez-Prieto P, Parga-Lozano C, Barbolla L, Middleton D. Activating and not Killer Immunoglobulin Receptors (KIR) Correlate With Geography in Worldwide Population. Tissue Antigens. 2009. 73:469


 Vargas-Alarcon G, Reguera R, Gomez-Prieto P, Barbolla L, Monleon L, Parga-Lozano C, Arnaiz-Villena A. HLA in Mazahuas (Mexico) and Amerindian Origins. Tissue Antigens. 2009. 73:463




 Silvera C, Reguera R, Abd-El-Fatah S, Monleon L, Barbolla L, Gomez-Prieto P, Parga-Lozano C, Arnaiz-Villena A. HLA Genes in Afro-American Colombians. Tissue Antigens. 2009. 73:468.

 Reguera R, Barbolla L, Abd-El-Fatah S, Gomez-Prieto P, Parga-Lozano C, Arnaiz-Villena A. HLA Genes in Amerindian Immigrants to Madrid (Spain). Tissue Antigens. 2009. 73:469


 Serrano-Vela JI, Reguera R, Abd-El-Fatah S, Gomez-Prieto P, Parga-Lozano C, Arnaiz-Villena A. MHC in Wild Eurasian and North American Goldfinches Shows Natural Low Polymorphism and Transpecies Evolution. Tissue Antigens. 2009. 73:469

 Arnaiz-Villena, A., Reguera, R., Gomez-Prieto, P., Parga-Lozano, C., Ruiz-del-Valle. Definition of Parallel North American Carduelis species Evolutionary Radiations. Abstrac Book. 79th Meeting of the Cooper Ornithological Society. 2009: 69

 Arnaiz-Villena, A., Reguera, R., Gomez-Prieto, P., Parga-Lozano, C., Ruiz-del-Valle, Serrano-Vela I. Mitochondrial DNA Phylogenetic Definition of a Group. Abstrac Book. 79th Meeting of the Cooper Ornithological Society. 2009: 65

-  Arnaiz-Villena, A., Reguera, R., Gomez-Prieto, P., Parga-Lozano, C., Ruiz-del-Valle, Serrano-Vela I. Mitochondrial DNA Phylogenetic Definition of a Group. Abstrac Book. 79th Meeting of the Cooper Ornithological Society. 2009: 67
-  Arnaiz-Villena A, Parga-Lozano C, Gómez-Prieto P, Barbolla L, Abd-el-Fatah S, Monleón L, Reguera R. "Genes HLA en afroamericanos de Colombia: San Basilio de Palenque, los primeros africanos libres en América". Revista Española De Antropología Física. 2009; 29(1):58-59.
-  Reguera R, Gómez-Prieto P, , Abd-el-Fatah S, Monleón L, Arnaiz-Villena A, "Orígenes y relaciones genéticas HLA de los Uros: habitantes de islas-flotantes en el lago Titikaka (Bolivia/Perú)". Revista Española De Antropología Física. 2009; 29(1):70-71.

CAPÍTULOS DE LIBRO

-  Gomez Prieto P., Parga Lozano C., Rey D., Moreno E., Arnaiz Villena A. "HLA-G, -F and -E: Polymorphism, Function and Evolution". The HLA Complex in Biology and Medicine . ISBN: 978-81-8448-870-8. ed: Jaypee Group. 2010;p.159.

CONGRESOS

- ✓ 24rd European Immunogenetics and Histocompatibility Conference (EFI) – 17th Annual Meeting of the Italian Immunogenetics Society May 15 - 18, 2010, Firenze, Italy.
- ✓ XVI Congreso de la Sociedad Española de Antropología Física. 2009 Alcalá de Henares, España.
- ✓ 23rd European Immunogenetics and Histocompatibility Conference (EFI) – 17th Annual Meeting of the German Society for Immunogenetics (DGI) May 9 - 12, 2009, Ulm, Germany. Abstrac
- ✓ 79th Meeting of the Cooper Ornithological Society. 16-18 April. Tucson. USA. 2009

Anexo 2: Publicaciones relacionadas con la tesis doctoral

The Open Immunology Journal, 2009, 2, 59-66

59

Open Access

HLA Genes in Afro-American Colombians (San Basilio de Palenque): The First Free Africans in AmericaAntonio Arnaiz-Villena^{*1}, Raquel Reguera¹, Carlos Parga-Lozano², Sedeka Abd-El-Fatah-Khalil³, Luis Monleon³, Luz Barbolla³, Pablo Gomez-Prieto¹, Jorge Martinez-Laso¹ and Carlos Silvera⁴¹Department of Immunology, University Complutense, The Madrid Regional Blood Center, Madrid, Spain²Department Basic Science, Universidad del Sinú Seccional, Cartagena de Indias, Colombia³Department of Hematology, The Madrid Regional Blood Center, Madrid, Spain⁴Department of Genetics, Universidad del Norte, Barranquilla, Colombia

Abstract: An Afro-American semi-isolated Colombian population is studied for its HLA genes: San Basilio de Palenque community in Colombia northern mountains. This community represents the first free Africans in America earning recognition by the Spanish Crown in 1691 AD. Nowadays, they also speak the only extant Bantu-Spanish Creole language over the World; these people have been apart from their neighbours and claim a direct African descent. Their HLA genes were compared with African, Afro-American, Amerindian and worldwide populations by using genetic distances (DA), Neighbour-Joining dendrograms and correspondences analyses. Arlequin, DISPAN and VISTA softwares were used for the completion of these computerised calculations. San Basilio de Palenque, a relatively ethnic isolate, is genetically close to other North and South Afro-Americans and to West Africa-Bantu speaking groups (Senegalese; Bubi, Guinea Gulf). Five HLA extended haplotypes are found only in this population: A*02-B*07-DRB1*0801-DQB1*0301, A*02-B*35-DRB1*1304-DQB1*0301, A*02-B*15-DRB1*0302-DQB1*0402, A*01-B*51-DRB1*0301-DQB1*0201, A*68-B*15-DRB1*0102-DQB1*0501. Only very limited gene flow is found from either Amerindians or Europeans, as expected by historical records. Our HLA data may also prove useful for future regional transplant programs and genetic epidemiology of HLA-linked diseases.

Keywords: First free Afro-Americans, Afro-Americans, HLA, Bantu-Spanish Creole, Creole, Colombia, transplantation, genetic epidemiology.

INTRODUCTION

The highly polymorphic HLA system has been validated as useful for distinguishing and/or relating populations and individuals. HLA gene frequencies correlate with geographically related populations; the existence or absence of gene flow among neighbours may be assessed with the study of HLA frequencies and the corresponding genetic distances. Certain alleles are frequent only in specific populations (i.e., A36, A43 in Afro-Americans) and the strong linkage disequilibrium between HLA neighbouring loci demonstrates that certain combinations of contiguous alleles (HLA haplotypes) show a characteristic frequency or are distinctive for certain living populations [1-3].

At present, Colombia has a complex ethnicity, which is mainly composed of Mestizo groups (58%; Afro-Americans, Amerindians, European Caucasoids), European Caucasoids (20%; White Europeans), Mulatto groups (14%; Afro-Americans, European Caucasoids), Afro-Americans (4%; Black Africans) and Amerindians (1%). Pure Amerindians may be underestimated and included in the last group, because of recent rural to urban cities emigration [4]. The

Black Colombians are descendants of Black people who were brought to America by Spaniards from West African regions (i.e., Mali, Senegal and Guinea) in the beginning of the 16th century AD [5]. These African people are related to those Africans from the Guinea Gulf, who invaded and overwhelmed Central and South Africa by 400 years AD and reduced and cornered other ethnicities such as Bushmen and Pygmies: the Bantu expansion [6,7]. They belonged to several linguistic groups, principally the Bantu language (Niger-Congo phylum). The strategic placement of Cartagena de Indias city at the North coast of Colombia was used to introduce African populations to work in agricultural fields (North coastal areas) and others were transferred to inner regions (South and Pacific coasts) to work in gold mines [5]. In 1599 AD, Black African slaves started to escape from coastal city Cartagena de Indias and took refuge in nearby Maria Mountains, establishing the first traces of San Basilio de Palenque city. After a tough fight with Spanish army, the Spanish Crown at Madrid issued a Royal Decree in 1691 AD, guaranteeing freedom for Africans at San Basilio de Palenque; however, real African autonomy became possible here in 1713 AD after intense agitation, becoming the first free African community in America [8]. Colombia reached independence from Spain in 1819 AD. However, several groups of these African descending groups started to organise themselves in small villages throughout Iberian America; these villages were called "Palenques" in Colombia, Cuba

*Address correspondence to this author at the Departamento de Inmunología, Facultad de Medicina, Universidad Complutense, Pabellón 5, planta 4. Avda. Complutense s/n, 28040 Madrid, Spain; Tel: +34 913 941632; Fax: +34 91 301 73 56; E-mail: arnaiz@med.ucm.es

1874-2262/09

2009 Bentham Open

Estrildinae Finches (*Aves*, *Passeriformes*) from Africa, South Asia and Australia: a Molecular Phylogeographic Study

Antonio Arnaiz-Villena*, Valentin Ruiz-del-Valle, Pablo Gomez-Prieto, Raquel Reguera, Carlos Parga-Lozano and Ignacio Serrano-Vela

Department of Immunology, University Complutense, The Madrid Regional Blood Center, Madrid, Spain

Abstract: Estrildid finches are distributed throughout Africa, South Asia, Australia and neighbouring islands in the Indian and Pacific Oceans. Some specific phylogenetic and systematic debated questions have been clarified in the present study by mitochondrial cytochrome b DNA sequencing of 61 species of Estrildids and subsequent analyses of results by both Bayesian Inference and Maximum Likelihood methodologies. Our results support that Estrildids are a monophyletic group with polytomies that may have started evolving by Middle Miocene Epoch (about 16, 5 million years ago). This proposed timing is coincidental with the *Fringillinae* finches' radiation starting time and also with the biggest Himalayan and Tibetan Plateau uplift, triggered by the Indian tectonic plate strongest collision; this established present day southern Asia monsoon regime and other drastic climatic changes, like a dryer weather in Tibetan Plateau and China deserts. The Estrildid finches form a monophyletic group which includes several polytomies and comprises African, Asian and Australian birds. The most ancient evolutive group comprises African (African silverbill), Asian (Indian silverbill) and Australian (diamond firetail); this suggests that the whole Estrildids radiation might have originated around India. More Estrildid species will be studied in order to further establish this group phylogeography. In addition, monophyletic radiations include species from different Continents. Finally, *Ploceinae* Genus *Quelea* finches is a group separate and basal from Estrildini and Viduini species in our dendrograms.

Keywords: Estrildids, finches, firefinches, grassfinches, munias, mannikins, silverbills, waxbills, weavers, quelea, ploceinae.

INTRODUCTION

The Estrildids represent an old group of songbirds (order *Passeriformes*) distributed throughout Africa, South Asia and Australia, including the Indian and South Pacific Islands. They feed almost exclusively of seeds, have a small size and are very sociable and active, showing a great variety of colours and well-developed behavioural patterns [1]. They have been traditionally classified as the family *Estrildidae*, and three groups can be differentiated: the African waxbills (genera *Estrilda*, *Pytilia*, *Lagonosticta*, *Uraeginthus* and others), the Australian grassfinches (genera *Poephila*, *Neochmia* and others) [2,3] and the paleotropical mannikins (genera *Lonchura*, *Erythrura* and others). However, we have followed the classification proposed by Sibley [4], which is based on a kind of molecular data (DNA / DNA hybridation) and considers the Estrildids as a subfamily (*Estrildinae*) with two tribes (Estrildini and Viduini), close to the weavers (subfamily *Ploceinae*) and the sparrows (subfamily *Passerinae*), being all of them included within the family *Passeridae*. According to this classification, 29 genera and 158 species are included within the subfamily *Estrildinae*.

The origin and evolution of the Estrildids, and even their monophyly, is yet to be solved. The true relationship among the African, Asian Indian, and Austro-Pacific Estrildinae groups, the hypothetical original place of radiation (if only one existed), the inclusion of the whydahs within the Estrildids, and the relationships between the Estrildids and other groups, like the weavers and sparrows, is still debated. Also, the remarkable case of the Australian *Neochmia temporalis*, which shows a very similar phenotype to the African *Estrilda astrild rubriventris*, introduces the controversy on convergent evolution versus genetic relatedness [1]. On the other hand, the nomenclature may need be revised. Indeed, some species are identified with at least two different scientific names (*Chloebia* or *Erythrura gouldiae*, *Padda* or *Lonchura oryzivora*, *Emblema* or *Stagonopleura guttata*, *Aidemosyne* or *Neochmia modesta*, *Aegintha* or *Neochmia temporalis*, *Lonchura griseicapilla* or *Spermestes caniceps* or *Odontospiza caniceps*). Also, genera are named differently by different authors; i.e.: the African munias are designated either as *Lonchura* or *Spermestes*; and the Australian genus *Taeniopygia* is also known as *Poephila* [1,4,5]. Finally, several genera contain only one or two species (*Emblema*, *Mandingoa*, *Clytospiza*, *Amadina*, *Hypargos* or *Euschistospiza*) and the position of some of them within the Estrildids remains unclear.

Studies based on molecular data have addressed some of these problems. Phylogenetic analyses of some species of Estrildids based on the nuclear gene β -fibrinogen [6] and on the mitochondrial genes cytochrome b [6,7] and ND1, ND2,

*Address correspondence to this author at the Departamento de Inmunología, Facultad de Medicina, Universidad Complutense de Madrid, Avenida Complutense s/n, 28040 Madrid, Spain; Tel: +34 913017354; Fax: +34 913017356; E-mail: arnaiz@med.ucm.es



Contents lists available at ScienceDirect

Journal homepage: www.elsevier.com/locate/humimm

Evolution of major histocompatibility complex G and C and natural killer receptors in primates

Carlos Parga-Lozano, Raquel Reguera, Pablo Gomez-Prieto, Antonio Arnaiz-Villena*

Department of Immunology, University Complutense, The Madrid Regional Blood Center, Madrid, Spain

ARTICLE INFO

Article history:
Received 4 July 2009
Accepted 28 July 2009
Available online 6 August 2009

Keywords:
Chimpanzee
Cotton-top tamarin
Evolution
KIR
Macaca
Natural killer cell
MHC-G
MHC-C
HLA-G

ABSTRACT

Major histocompatibility complex (MHC)-G and -C molecules bear ligands to natural killer immunoglobulin receptors (KIR). MHC-G evolution in primates shows some anomalies. In New World monkeys MHC-G molecules show a high polymorphism and most likely are classical antigen presenters; they also cluster closer to MHC-E in a relatedness dendrogram. Their genes lack intron 2 deletion, which is typical of all other primates in regard to MHC-G. Medium-sized Eurasian-African monkeys (*Cercopithecoidea*) show stop codons in exon 3: only MHC-G isoforms without exon 3 are possible. Big apes such as the orangutan, gorilla, and chimpanzee as well as human beings show limited HLA-G polymorphism. HLA-C has not been found in medium-size Eurasian-African monkeys, but we have found MHC-C DNA sequences in more evolutionary ancient New World monkeys. Taking into account that the KIR inhibitory receptors signal is dominated by MHC-C in human beings, this suggests that both MHC-C molecules and their ligands within natural killer lymphocyte KIR also exist in the most evolutionary ancient apes (New World monkeys were present on Earth before 40 million years ago), as KIR receptors also appeared before 130 million years ago in evolution. Indeed, KIR receptor genes have recently been found in a New World monkey.

© 2009 Published by Elsevier Inc. on behalf of American Society for Histocompatibility and Immunogenetics.

1. Introduction

Human leukocyte antigen G (HLA-G) has been shown to be a tolerogenic molecule for the immune response, particularly against the maternal immune system by fetal cytotrophoblast [1]. It gives negative signals for presenting natural killer (NK) and T cells [2,3]. In addition, lack of HLA-G has been shown to be associated with inflammatory and autoimmune diseases [4,5] and its presence in tumors to activate an immune tumor escape mechanism [4]. Viral infections also activate HLA-G synthesis and promote infections themselves [4]. Some alleles have been shown to be linked to disease [4]. Also, HLA-G is important for predicting graft rejection and for avoiding it by enhancing HLA-G *in situ* synthesis [4].

However, some aspects of HLA-G need to be further studied, particularly the MHC-G molecule evolution within primates 40 million years evolution (from New to Old World primates) [6]. This natural "experiment" may give us more clues to major histocompatibility complex (MHC)-G function and physiopathology. In the

present work, we review the evolution of New and Old World primate MHC-G, particularly in connection with NK cells and the latter strong interactions with HLA-C molecules.

On the other hand, NK immunoglobulin receptors (KIR) receive negative signals for cytotoxicity from HLA-G (KIR2DL4) [1], and HLA-C inhibitory KIR response is one of the strongest NK lymphocyte inhibition signals [7]. In fact, MHC class I genes and KIR-like receptor genes have coevolved in primates [6,8]. All KIR stem from KIR3DL and KIRDX, which diverged about 135 million years ago and have coevolved with MHC-G and MHC-C as well as other MHC genes [9]. However, this coevolution shows atypical features: 1) MHC-G molecules have a different kind of molecule for each primate species [10]; 2) MHC-C molecules have been found in orangutans (*Pongo pygmaeus*) but not in all individuals (which does not mean they do not have it [11]). Because New World monkeys separated from Old World monkeys about 40 million years ago [6,12] and NK KIR have existed since about 135 million years ago, it is striking that no New World monkey MHC-C equivalent has been found. Here we address this unusual species-specific evolution of MHC-G molecules related to MHC-C and NK lymphocyte inhibition.

2. Subjects and methods

2.1. Ape cell lines

Cell lines from human beings (*Homo sapiens*), chimpanzees (*Pan troglodytes*, *Patr*), gorillas (*Gorilla gorilla*, *Gogo*), orangutans (*Pongo*

The nucleotide sequence data Sae MHC-C*1 and Sae MHC-C*2 have been given by the GenBank nucleotide sequence data base the accession numbers **AF005217**, **AF005218**, respectively.

The first and second to authors contributed equally to this work, and the order of authors is arbitrary.

* Corresponding author.

E-mail address: arnaiz@med.ucm.es (A. Arnaiz-Villena).

0198-8859/09/\$32.00 - see front matter © 2009 Published by Elsevier Inc. on behalf of American Society for Histocompatibility and Immunogenetics.
doi:10.1016/j.humimm.2009.07.017

HLA genes in Uros from Titikaka Lake, Peru: origin and relationship with other Amerindians and worldwide populations

A. Arnaiz-Villena,* V. Gonzalez-Alcos,† J. I. Serrano-Vela,* R. Reguera,* L. Barbolla,‡
C. Parga-Lozano,* P. Gómez-Prieto,* S. Abd-El-Fatah-Khalil† & J. Moscoso*

Summary

Uros population from the Titikaka Lake live in about 42 floating reed ('totora') islands in front of Puno City (Peru) at a 4000 m high altiplano. They present both an mtDNA and a human leucocyte antigen (HLA) profile different from the surrounding populations: mtDNA A2 haplogroup is common to Uros and Amazon forest lowland Amerindians. HLA genetic distances between populations have been calculated and neighbour-joining dendrograms and correspondence analyses were carried out. Approximately 15 006 HLA chromosomes from worldwide populations have been used for comparisons. Only eight HLA-A alleles have been found, three of them accounting for most of the frequencies. The same phenomenon is seen for HLA-B, HLA-DRB1 and HLA-DQB1 alleles: a few alleles (3, 4 and 3, respectively) are present in most individuals. The presence of HLA-B*4801 and HLA-DRB1*0901 alleles in a relatively high frequency (although not the most frequent alleles found) is a characteristic shared with Asians and some populations from the Andean altiplano. Three specific Uros haplotypes have been found among the most frequent ones: HLA-A*680102-B*3505-DRB1*0403-DQB1*0302; HLA-A*2402-B*1504-DRB1*1402-DQB1*0301; and HLA-A*2402-B*4801-DRB1*0403-DQB1*0302. The present study suggests that Uros may have been one of the first populations from the shores of the Titikaka Lake coming from the Amazonian forest, which might have given rise to other later differentiated ethnic group (i.e. Aymaras). Uros HLA profile is also useful to study genetic epidemiology of diseases linked to HLA and to construct a future transplant waiting list by adding up regional lists in order to get a bigger pool for transplanting with better HLA matching.

* Department of Immunology, University Complutense, The Madrid Regional Blood Center, Madrid, Spain, † Regional Hospital Manuel Muñoz, Puno, Peru, ‡ Department of Hematology, University Complutense, The Madrid Regional Blood Center, Madrid, Spain

Received 24 December 2008; revised 24 December 2008; accepted 17 March 2009

Correspondence: Antonio Arnaiz-Villena, Departamento de Inmunología, Facultad de Medicina, Universidad Complutense de Madrid, Avenida Complutense s/n, 28040 Madrid, Spain. Tel: +34 91 301 7354; Fax: +34 91 301 7213; E-mail: aarnav@med.ucm.es; URL: <http://chopo.pntic.mec.es/biomed>

Introduction

Uros people live nowadays in about 42 'totora' (reed) floating islands in the Peruvian part of the Titikaka Lake. They are people that still live as hunters-gatherers in modern times (fishing and hunting birds) (Kauffmann-Doig, 1992; Palao-Berastain, 1999). Collas and Lupacas have come to the area after them (see Fig. 1), and Uros are believed to be the first altiplano inhabitants, who reached the highlands (3810 m) following up river beds after a big flood occurred in the forest Amazon Basin. This flood might have taken place at the end of the last glaciations, before 10 000 years ago (Palao-Berastain, 1999).

The relationship between Uros and the Tiahuanaco culture is unknown, but when it started (200 BC), they had already been living in the area for a long time (Caceres-Macedo, 2005). Tiahuanaco culture was established around Titikaka Lake reaching a mathematically, astrologically and technologically advanced urban state between 1st and 7th century AD. Then, the empire rapidly expanded throughout Bolivian and Peruvian Altiplano including lowland, forest parts and coastal areas. By 12th century AD, Colla Empire substituted Tiahuanaco Empire, which was later included within Inca Empire and finally taken by Spaniards in 16th century AD. Titikaka and Colla Empires citizens spoke Aymara language, which gave later rise to Quechua language (Ortega & Ortega, 2006). Uros and Aymaras have had a long standing neighbourhood relation. Anthropologically, Uros show more coloured skin than Aymaras and are dolicocephalic, while Aymara people are usually brachicephalic (Victor Englebert: <http://www.worldand.com/public/2001/may/uros.html>). Regarding ancient Uros language, it is related to Uro-Chipaya isolated branch, which is spoken in Titikaka surroundings and Desaguadero River (Bolivia). Uro and Chipaya are considered dialects of the same language (<http://en.wikipedia.org/wiki/Uros>). Uro-Chipaya is regarded to be related to Arawak (spoken in Amazon Basin lowlands, further suggesting a lowlands origin for the Uros) and even with Maya languages. Nowadays, Uros speak the Spanish language and, to a lesser extent, the Aymara language. They were considered 'backwards and dirty people' by Aymaras (Bertonio, 2006).

At present, tuberculosis and rheumatic diseases are frequently seen among Uros, according to the Puno

The Origin of Amerindians and the Peopling of the Americas According to HLA Genes: Admixture with Asian and Pacific People

A. Arnaiz-Villena^{*1}, C. Parga-Lozano¹, E. Moreno², C. Areces¹, D. Rey¹ and P. Gomez-Prieto¹

¹Department Immunology, University Complutense, The Madrid Regional Blood Center, Madrid, Spain

²Department Surgery and Liver Transplant, Hospital 12 de Octubre, Madrid, Spain

Abstract: The classical three-waves theory of American peopling through Beringia was based on a mixed anthropological and linguistic methodology. The use of mtDNA, Y chromosome and other DNA markers offers different results according to the different markers and methodologies chosen by different authors. At present, the peopling of Americas remains uncertain, regarding: time of population, number of peopling waves and place of peopling entrance among other related issues. In the present review, we have gathered most available HLA data already obtained about First Native American populations, which raise some doubts about the classical three waves of American peopling hypothesis. In summary, our conclusions are: 1) North West Canadian Athabaskans have had gene flow with: a) close neighboring populations, b) Amerindians, c) Pacific Islanders including East Australians and d) Siberians; 2) Beringia was probably not the only entrance of people to America: Pacific Ocean boat trips may have contributed to the HLA genetic American profile (or the opposite could also be true); 3) Amerindians entrance to America may have been different to that of Athabaskans and Eskimos and Amerindians may have been in their lands long before Athabaskans and Eskimos because they present and altogether different set of HLA-DRB1 allele frequencies; 4) Amerindians show very few "particular alleles", almost all are shared with other Amerindians, Athabaskans and Pacific Islanders, including East Australians and Siberians; 5) Our results do not support the three waves model of American peopling, but another model where the people entrance is not only Beringia, but also Pacific Coast. Reverse migration (America to Asia) is not discarded and different movements of people in either direction in different times are supported by the Athabaskan population admixture with Asian-Pacific population and with Amerindians; 6) HLA variability is more common than allele variability in Amerindians. Finally, it is shown that gene genealogy analyses should be completed with allele frequency analyses in population relatedness and migrations studies.

Received on: November 01, 2009 - Revised on: December 01, 2009 - Accepted on: December 08, 2009

Keywords: Aleuts, Amerindians, Athabaskans, Eskimo, HLA, peopling of America, mtDNA, Y Chromosome.

INTRODUCTION

The First Amerindian Natives are postulated to have come from Asia through the Bering land bridge between 30,000–12,000 years before the present (BP). These conclusions have been based on cultural, morphological and genetic similarities between American and Asian populations. Both Siberia [1] and Mongolia [2,3] have been put forward as the most likely places of origin in Asia.

Greenberg first postulated the triple migration theory Fig. (1) for explaining the peopling of the Americas [4]: Amerindians (most North and South American Indians; 12,000 years BP), Na-Dene (Athabascans, Navajo, Apache; 8,000 years BP) and Eskimo-Aleuts (6,000 years BP). Research carried out before the widespread use of Y Chromosome (Y Chr) and other nuclear DNA markers including mtDNA [5] for the study of populations [6,7] supported the three-wave model. However, other mtDNA studies have not [8,9]; other authors postulate only one wave coming from Mongolia / North China as giving rise to the First Native American

ancestors [2,3]. The study of Y Chromosome DNA markers seemed to suggest the existence of a single major paternal haplotype in both North and South American Native populations [10,11]. However, other studies on Y Chromosome show that more than one paternal founder haplotypes arrived in America during different migrations [12], probably from Siberia [13]. See also Fig. (1) [14-17].

More recently, new mtDNA analysis has suggested that all mtDNA lineages must have been isolated in Asia before entering the New World by at least 7-15 thousand years. They even suggest that this place must have been Beringia [18]. Also, a dispersal of Amerindians coming from Asia has been put forward through Coastal Pacific line [19] based on all available archaeological, anthropological and mtDNA and genetic data.

All these calculations are done by using paternal (Y Chr) or maternal (mtDNA) lineages may be biased when populations displacements are concerned, as in the putative Amerindians displacement from Asia to the Americas. In addition, other authors [20] using nuclear histocompatibility (HLA) markers do not regard as important and possible to establish the number and timing of migration waves. The important issue is whether immigrants (Amerindians) were already differentiated (in Asia) into such ethnic groups whose descendants are still to be found in Asia. If they were differen-

*Address correspondence to this author at the Departamento de Inmunología, Facultad de Medicina, Universidad Complutense, Pabellón 5, planta 4. Avda. Complutense s/n, 28040 Madrid, Spain; Tel: +34 913 941632; Fax: +34 91 301 73 56; E-mail: arnaiz@med.ucm.es

Distribution of HLA Class II Alleles and Haplotypes in Mexican Mestizo Population: Comparison with Other Populations

Gilberto Vargas-Alarcón,¹ Julio Granados,²
José Manuel Rodríguez-Pérez,¹ Carlos Parga,³
Nonanzit Pérez-Hernández,¹ Diego Rey,³ Joaquín Zuñiga,⁴
and Antonio Arnaiz-Villena³

¹Department of Molecular Biology, Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez, Mexico City, Mexico

²Immunogenetics Division, Transplantation Department, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubiran, Mexico City, Mexico

³Department of Immunology, University Complutense, The Madrid Regional Blood Center, Madrid, Spain

⁴Laboratory of Immunobiology and Genetics, Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias Ismael Cosío Villegas, Mexico City, Mexico

We describe the analysis of the Major Histocompatibility Complex (MHC) class II polymorphism in Mexican Mestizo population. The study provides the HLA-DRB1, DQA1 and DQB1 allele frequencies in 99 Mexican Mestizos. DNA from these individuals was typed by PCR followed by hybridization using sequence specific oligonucleotides (PCR-SSO). The relationship with other worldwide populations was studied by using HLA data from 69 different populations and calculating neighbor-joining dendrograms and correspondence multidimensional values. The highest frequencies were for DRB1*0802 (allele frequency = 0.151), DRB1*0701 (allele frequency = 0.111) and DRB1*0407 (allele frequency = 0.106). Among the eight DQA1 alleles detected, the most frequent were DQA1*03011 (allele frequency = 0.257), DQA1*0501 (allele frequency = 0.227) and DQA1*0401 (allele frequency = 0.166). Twelve DQB1 alleles were found and four of them, DQB1*0302 (allele frequency = 0.237), DQB1*0301 (allele frequency = 0.176), DQB1*0201 (allele frequency = 0.166) and DQB1*0402 (allele frequency = 0.166) showed the highest frequencies. The haplotype DRB1*0802-DQA1*0401-DQB1*0402

Address correspondence to Dr. Gilberto Vargas-Alarcón, Department of Molecular Biology, Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez, Juan Badiano 1, Sección XVI, Tlalpan, Mexico City, Mexico; E-mail: gvargas63@yahoo.com

HLA Genes in Populations of the Aleutian Islands

DIEGO REY,¹ CRISTINA ARECES,¹ CARLOS PARGA-LOZANO,¹ PABLO GÓMEZ-PRIETO,¹
MICHAEL H. CRAWFORD,² AND ANTONIO ARNAIZ-VILLENA¹

Abstract We typed a subset of the Aleut population for *HLA* loci (*HLA-A*, *HLA-B*, *HLA-DRB1*, *HLA-DQB1*) to obtain an *HLA* profile, which was compared to other Eurasian and Amerindian populations for studying Aleut origin and its significance on the peopling of the Americas. Allele frequencies at the four loci were identified in an Aleut sample using standard indirect DNA sequencing methods. Genetic distances with Amerindians and Eurasians were obtained by comparing Aleut allele frequencies with a worldwide population database (13,164 chromosomes). The most frequently extended *HLA* haplotypes were also calculated. We also generated Aleut relatedness dendrograms and calculated correspondence relatedness in a multidimensional scale. Both neighbor-joining dendrograms and correspondence analysis separated Aleuts from Eskimos and Amerindians. Aleuts are closer genetically to Europeans, including Scandinavians and English. Our results are concordant with those obtained by Y-chromosome analysis, suggesting that most male Aleut ancestors of our sample came mainly from Europe.

Aleuts are closely linked to the Eskimos with regard to the peopling of the Americas, but according to cultural and anthropological parameters, they have a distinct culture and a different origin and time of arrival in the Americas. The eastern Aleuts call themselves Unangan and the western Natives of the archipelago were called Aleuts by Russians ("Aleut" comes from Allíthuh; <http://www.eki.ee/books/redbook/aleuts.shtml>). Contemporary Aleuts have a relatively homogeneous common culture with two linguistic dialects that are mutually intelligible (Zlojutro et al. 2006). Genetic studies from mummies dated to 657 BC and Aleut remains dated to AD 1403 suggest a genetic continuity with present-day Aleut people (Zlojutro et al. 2006). In addition, the genetic structure of the populations of the Aleutian archipelago approximate an isolation-by-distance kin migration model (Crawford 2007). Mitochondrial DNA has been analyzed in Aleuts and compared to other populations. These analyses have shown more mtDNA affinities with Asian Chukchi and Siberian Eskimos than with Amerindians or U.S. Eskimos (Rubicz et al. 2003; Zlojutro et al. 2006). Interestingly, despite apparent

¹Department of Immunology, Madrid Regional Blood Center, Facultad de Medicina, Universidad Complutense de Madrid, Avenida Complutense s/n, 28040 Madrid, Spain.

²Department of Anthropology, University of Kansas, Lawrence, KS 66045.

Human Biology, October–December 2010, v. 82, nos. 5–6, pp. 737–744.
Copyright © 2010 Wayne State University Press, Detroit, Michigan 48201–1309

KEY WORDS: ALEUTS, AMERINDIANS, EUROPEANS, FINNS, *HLA*.

Songbirds Conserved Sites and Intron Size of MHC Class I Molecules Reveal a Unique Evolution in Vertebrates

A. Arnaiz-Villena*, V. Ruiz-del-Valle, P. Reche, P. Gomez-Prieto, E. Lowry, J. Zamora, C. Areces, D. Rey, C. Parga and J.I. Serrano-Vela

Department of Immunology, University Complutense, the Madrid Regional Blood Center, Madrid, Spain

Abstract: Birds are considered dinosaurs that passed the 65 million years ago bottleneck. Songbirds (Passeriformes) include about half extant bird species (about 5000) and are generally the most air-thriving bird species, concordantly with their small size. Major Histocompatibility complex (MHC) molecules stimulate immune responses against microbes and its class I molecules have seven conserved residues in all vertebrates from jawed-fishes, 300 million years ago, to humans, including chickens.

All wild songbird species tested by us ($n=18$) and others ($n=2$) differ in $\alpha 1$ domain residue 10 and $\alpha 2$ residue 96 from all other vertebrates. Amplification, cloning and sequencing were performed by standard methods. Sequences alignment were done by using PAUP and MEGA programs software. Crystallographic studies were performed by using mammal and bird MHC molecules from MPID database and other sources and showed that these changes did not significantly vary the MHC class I molecule stability in songbirds.

Further $\alpha 1$ and $\alpha 2$ domain comparisons by simple Composition Distances and Bayesian Inference showed that songbirds overall MHC class I molecules are phylogenetically more separated from mammal than other birds molecules. In addition MHC class I introns from Passeriformes (songbirds) were found to be longer than humans, chicken introns being the shortest ones.

These small mainly air-borne dinosaurs (Passeriformes) have undergone a different evolutive pathway, regarding to MHC, than all other tested vertebrates and more terrestrial birds. This may have been originated by an altogether different dinosaurs lineage origin or to adaptation to more aerial than terrestrial environment or other unknown cause. In any case, the specific changes observed in this work for class I molecules in songbirds have reached a entropic, stable solution similar to that reached by other vertebrates.

Keywords: Songbirds, MHC evolution, immunology, passerines, carduelis, serinus.

INTRODUCTION

The Major Histocompatibility Complex (MHC) comprises the most polymorphic loci in vertebrates and its molecules present antigenic peptides to clonotypic T cell receptor in order to start an immune response [1]. These proteins evolve rapidly and are quite different in primary sequence of different species [2]. However, certain amino-acid residues are conserved in MHC class I molecules from reptilian to humans for keeping the overall tertiary structure [3].

MHC class I genes have been completely sequenced ($\alpha 1$ and $\alpha 2$ protein domains [1]) and thoroughly studied in *Gallus gallus* (chicken) [4, 5], and mammals [1, 6]. The MHC locus [7] was first defined in chicken [8, 9], in particular the highly consanguineous variety 'Leghorn' [4, 10]. The chicken's MHC genetic region is considerably smaller than that of mammals —remarkably it has shorter introns [4, 11]—, and is organized quite differently [4]. Thus, a noteworthy difference is the existence of short

introns in the chicken; that supported the hypothesis that the chicken's MHC represented a 'minimal essential MHC' [4, 5]. It has been assumed that chicken (order Galliformes) MHC was similar to all species included in the whole class Aves. However, it was shown later that this was not the case (see below).

Class I MHC genes have been sequenced and studied in four songbird species: *Acrocephalus arundinaceus* (great reed warbler) [12], *Serinus canaria* (wild canary), *Serinus mozambicus* (yellow-fronted canary), and *Serinus thibetanus* (Tibetan serin) [13, 14]. These sequences showed an apparently more variable exon 3 than *G. gallus* [12-14], and that class I MHC evolution in islands was different than in sister continental species —wild canary (*Serinus canaria*) vs. Asian Tibetan serin and African yellow-fronted canary— [14].

On the other hand, mammals and dinosaurs both appeared in Triassic Epoch —about 300 million years ago (MYA)—, and both survived the 65 MYA Cretaceous extinction. Currently there are about 4200 mammal species, and 9600 dinosaur (bird) species [15, 16]. After the extinction, when all terrestrial dinosaurs disappeared, many mammals occupied these terrestrial niches recently left empty.

*Address correspondence to this author at the Departamento de Immunología, Facultad de Medicina, Universidad Complutense de Madrid, Avenida Complutense s/n, 28040 Madrid, Spain; Tel: +34 913017354; Fax: +34 913017356; E-mail: arnaiz@med.ucm.es

Original Synthetic Report

The peopling of the Americas: a complex issue for Amerindian, Na-Dene, Aleut and Eskimo first inhabitants

Antonio Arnaiz-Villena^{1*}, Cristina Areces¹, Pablo Gomez-Prieto¹, Carlos Parga-Lozano¹, Enrique Moreno², Sedeka Abd-El-Fatah-Kalil³, Diego Rey¹,

Antonio Arnaiz-Villena is presently Head of Department of Microbiology and Immunology at Complutense University, Madrid, Spain. He has been as Research Fellow in the Middlesex Hospital and The London Hospital, London, UK for 9 years. He has published more than 300 papers in international magazines and 8 books in Immunology, Immunogenetics and Human and Bird Population Genetics. He has directed 48 PhD thesis.
E-mail: arnaiz@med.ucm.es. Web page: <http://chopo.punic.mec.es/biolmol/>

¹Dept. Immunology, University Complutense, The Madrid Regional Blood Center, Madrid, Spain, ²Dept. Surgery and Liver Transplant, Hospital 12 de Octubre, Madrid, Spain, ³The Madrid Regional Blood Center, Madrid, Spain.

Abstract - Aim: To compare the Amerindians HLA allele frequencies with those of other First American Natives and also those of other worldwide populations in order to clarify the still unclear peopling of the Americas and the origins of Amerindians. **Subjects and methods:** All possible HLA data already obtained about early Native American populations are used. Genetic distances and N-J dendrogram method are applied. **Results and conclusions:** Results and discussion have given to the following conclusions: 1) Pacific Ocean boat trips may have contributed to the HLA genetic American profile (or *vice versa*); 2) North West Canadian Athabaskans have had gene flow with close neighboring populations, Amerindians, Pacific Islanders including East Australians, and Siberians; 3) Amerindians entrance to America may have been different to that of Athabaskans, Aleuts and Eskimos; Amerindians may have been in their lands long before Athabaskans and Eskimos because they present and altogether different set of HLA-DRB1 allele frequencies; 4) Amerindians show very few "particular" single-locus alleles, but have unique extended haplotypes; 5) Our results do not support the three-wave model of American peopling, but another model where the Pacific Coast is also an entrance point. Reverse migration (America to Asia) is not discarded and different movements of people in either direction in different times are supported by the Athabaskan population admixture with Asian-Pacific population and with Amerindians.

Key words: Aleuts, Amerindians, Athabaskans, Eskimo, HLA, peopling of America.

HLA genes in Amerindian immigrants to Madrid (Spain): epidemiology and a virtual transplantation waiting list

Amerindians in Madrid (Spain)

Carlos Parga-Lozano · Diego Rey-Medrano · Pablo Gomez-Prieto ·
 Cristina Areces · Juan Moscoso · Sedeka Abd-El-Fatah-Khalil ·
 Enrique Moreno · Antonio Arnaiz-Villena

Received: 23 June 2010 / Accepted: 22 September 2010 / Published online: 8 October 2010
 © Springer Science+Business Media B.V. 2010

Abstract Amerindians immigrated to Madrid (Spain) region are about 10% of the present day population. Amerindians are believed to be the first American inhabitants, before Na-Dene speakers, Aleuts and Eskimo. They may initially have arrived to America from Siberia and also from other parts of Pacific Sea (South Asia, Polynesia and Australia). Nowadays, they populate America from Canada to Tierra del Fuego (South America tip South). Most Amerindian immigrants to Madrid have come from Andean Countries in the last 10 years (mainly Ecuador, Bolivia, Peru and Colombia). They show an HLA profile with “quasi-specific alleles”, which makes them different to the rest of the World. In the present work, we have aimed to determine the immigrants HLA profile in order to establish a virtual transplantation waiting list which may be useful for their therapeutic transplants, particularly bone marrow transplantation. This would be carried out together with Amerindian immigrants to other parts of Spain and with their own countries in order to build up transplantation

programs. Specific epidemiology programs on HLA linked disease will also be established. Immigrant volunteer unrelated blood donors contributed to the present study. HLA typing was performed by standard methods and their HLA profile obtained and compared with 15,108 HLA chromosomes from the rest of the World, including Spaniards. The immigrants showed a typical Amerindian profile similar to isolated Amerindian ethnic groups and altogether different to other World inhabitants (including Spaniards). These are the first bases to set up transplantation and epidemiology studies in collaboration with their original population in America. Finally, the HLA profile found in these Amerindians does not indicate their American specific original area, as it is expected from previous studies, i.e.: they do not relate more with Andean than with other Amerindians in Neighbour Joining dendrograms or correspondence analyses.

Keywords Amerindian immigrants · Amerindian origins · Epidemiology · HLA · Transplantation

Carlos Parga-Lozano and Diego Rey contributed equally for this work and the order of authorship is arbitrary.

C. Parga-Lozano · D. Rey-Medrano · P. Gomez-Prieto ·
 C. Areces · J. Moscoso · A. Arnaiz-Villena (✉)
 Department of Immunology, Facultad de Medicina, University
 Complutense, Universidad Complutense, Avda. Complutense
 s/n, 28040 Madrid, Spain
 e-mail: aarnaiz@med.ucm.es

S. Abd-El-Fatah-Khalil
 Department of Haematology, The Madrid Regional Blood
 Center, Madrid, Spain

E. Moreno
 Department of Hepatic Surgery, Hospital 12 de Octubre,
 Madrid, Spain

Introduction

The First American Natives are postulated to have come from Asia through the Bering land bridge between 30 and 12 thousand years ago (KYA). These conclusions have been based on cultural, morphological and genetic similarities between American and Asian populations [1]. Both Siberia [1] and Mongolia [2, 3] have been put forward as the most likely places of origin in Asia. Greenberg first postulated the triple migration theory for explaining the peopling of the Americas [4]: Amerindians (most North and South American Indians; 12 KYA or 12,000 years ago), Na-Dene (Athabaskans, Navajo, Apache; 8 KYA)

HLA genes in Wayu Amerindians from Colombia

Carlos Silvera,^{1,2} Gilberto Vargas-Alarcon,³ Cristina Areces,¹ Diego Rey,¹ Carlos Parga-Lozano,² Pablo Gomez-Prieto,² Luz Barbolla,⁴ Jorge Martinez-Laso,² and Antonio Arnaiz-Villena²

¹Department of Genetics, Universidad del Norte, Barranquilla, Colombia

²Department of Immunology, University Complutense, The Madrid Regional Blood Center, Madrid, Spain

³Department of Immunology and Rheumatology, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubiran, Mexico City, Mexico

⁴Department Hematology, The Madrid Regional Blood Center, Madrid, Spain

Amerindians origins and prehistory are still debated. HLA profile is different to all other World populations, although they have particular alleles in common with Asians, Australians and Pacific Islanders. In the present work, HLA-A, -B, -DRB1, -DQB1 alleles have been studied in Wayu Amerindians from Colombia. HLA alleles haplotypes, genetic distances and NJ dendrograms were calculated by Arlequin and DISPAN software. Only a few both class I and class II alleles have been observed. Most common extended haplotypes include: A*24-B*51-DRB1*0403-DQB1*0302, A*2-B*15-DRB1*1602-DQB1*0301, A*2-B*35-DRB1*0407-DQB1*0302, but also A*68-B*15-DRB1*0403-DQB1*0302. No trace of Caucasoid or Negroid admixture is detected. The Wayu HLA profile is typical from Amerindians and shows how languages and genes do not correlated particularly in this case (i.e., Wayu closest HLA genetic group is North Argentinian Guaraní group). Results obtained in this work may be useful for future transplant programs and also for HLA linked diseases and individualized pharmacogenetics.

Keywords Amerindians, Colombian, HLA, Wayu.

INTRODUCTION

It has been established that more than one wave of people gave rise to the American Indians (Karafet, 1999; Arnaiz-Villena, 2000). The timing of the peopling of the Americas is under debate, but the most ancient human settlements

Authors Silvera and Vargas-Alarcon contributed equally to this work and the order of authorship is arbitrary.

Address correspondence to Prof. Dr. Antonio Arnaiz-Villena, Departamento de Inmunología, Facultad de Medicina, Universidad Complutense, Pabellón 5, planta 4. Avda. Complutense s/n, 28040 Madrid, Spain; E-mail: aarnaiz@med.ucm.es

HLA in Jaidukama: an Amerindian secluded Colombian population with new haplotypes and Asian and Pacific-shared alleles

J. Martínez-Laso · F. Montoya · C. Areces · J. Moscoso ·
C. Silvera · D. Rey · C. Parga-Lozano · P. Gómez-Prieto ·
M. Enriquez de Salamanca · A. Arnaiz-Villena

Received: 24 September 2010 / Accepted: 9 November 2010
© Springer Science+Business Media B.V. 2010

Abstract America first inhabitants and peopling are still debated. In order to increase knowledge about these questions, we have aimed to detect HLA genes of an Amerindian secluded community: Jaidukama, who lives in North Colombia Equatorial forest. HLA genotyping and extended haplotype calculations were carried out in 39 healthy individuals belonging to 13 families. HLA frequencies were compared to other Amerindians and worldwide populations by calculating genetic distances, relatedness dendrograms and correspondence analyses. Only four DRB1 alleles were found (*0404, *0407, *1402 and *1602); however a total of 17 Amerindian different extended class I–class II HLA haplotypes were directly counted from the family studies, nine of them were specific of Jaidukamas. Some of the alleles or group of alleles

within an extended haplotype (i.e. DQB1–DRB1) were also found in Asians and Pacific Islanders, further supporting existence of Asian and Pacific gene flow with Amerindians or a common founder effect. It is further supported that HLA extended haplotypes vary faster than alleles in populations. It is concluded that this unique model of Amerindian secluded families study suggests that rapid HLA haplotype variation may be more important than allele variation for survival (starting immune responses). This work may also be useful for future transplant programs in the area.

Keywords Jaidukama · Colombia · Amerindians · HLA · America peopling

The authors J. Martínez-Laso and F. Montoya contributed equally for this work and the order of authorship is arbitrary.

J. Martínez-Laso
Unidad de Inmunoterapia Celular, Centro Nacional de
Microbiología, Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain

F. Montoya
Section of Immunology, Corporación para Investigaciones
Biológicas, Medellín, Colombia

C. Areces · J. Moscoso · C. Silvera · D. Rey ·
C. Parga-Lozano · P. Gómez-Prieto ·
M. Enriquez de Salamanca · A. Arnaiz-Villena
Department of Immunology, University Complutense,
The Madrid Regional Blood Center, Madrid, Spain

A. Arnaiz-Villena (✉)
Departamento de Inmunología, Facultad de Medicina,
Universidad Complutense, Pabellón 5, planta 4. Avda.
Complutense s/n, Madrid 28040, Spain
e-mail: aarnaiz@med.ucm.es
URL: <http://chopo.pntic.mec.es/biolmol/>


Introduction

The first Amerindian natives are postulated to have come from Asia through the Bering land bridge between 30,000 and 12,000 years before the present (BP). These conclusions have been based on cultural, morphological and genetic similarities between American and Asian populations. Both Siberia [1] and Mongolia [2, 3] have been put forward as the most likely places of origin in Asia.

Greenberg first postulated the triple migration theory for explaining the peopling of the Americas [4]: Amerindians (most North and South American Indians; 12,000 years BP), Na-Dene (Athabascans, Navajo, Apache; 8,000 years BP) and Eskimo-Aleuts (6,000 years BP) [5]. Some studies have or have not supported the hypothesis by Y Chr and mtDNA markers [2, 3, 6–12]. However these conclusions do not explain all linguistic and genetic findings [13–15].

Y Chr and mtDNA studies seem unable to definitively clarify American people and Amerindian origins, mainly

Published online: 26 November 2010

 Springer

Human Leukocyte Antigen-DRB1 Class II Genes in Mexican Amerindian Mazahuas: Genes and Languages Do Not Correlate

Antonio Arnaiz-Villena,¹ Sedeka Abd-El-Fatah,² María Angeles Granados-Silvestre,³ Carlos Parga-Lozano,¹
 Pablo Gómez-Prieto,¹ Diego Rey,¹ Cristina Areces,¹ Patricia Peñaranda,² Martha Menjivar,³
 José Manuel Rodríguez-Pérez,⁴ Julio Granados,⁵ and Gilberto Vargas-Alarcón¹

Background: The major histocompatibility complex genes are located on the short arm of the human sixth chromosome; they are highly polymorphic and therefore have been very advantageous in population genetic studies. **Methods:** A Mazahua group established in North Mexico State and also in nearby Michoacan state in the rainy mountain highlands (Mexico) was studied for their human leukocyte antigen (HLA)-DRB1 alleles. The relationship with other Amerindians and worldwide populations was studied by using 14,996 chromosomes from 75 different populations and calculating neighbor-joining dendrograms and correspondence multidimensional values. **Results:** Five principal HLA allele frequencies were found in our group: DRB1*0802 (the most frequent one in this population), DRB1*0407, DRB1*0403, DRB1*0101, and DRB1*1406. Both genetic distances and correspondence analyses clearly show that our Mazahua group is genetically close to some of the most ancient groups living in Mexico (Mayos, Zapotecs, Tenek) and South American Amerindians. Amerindians remain as a group apart from the rest of the world. **Conclusions:** The results analyzing the HLA-DR locus suggest that Mazahua language (Otomangue) does not correlate with those of the most closely HLA-correlated ethnic groups. The present data may be useful for future transplantation programs, HLA and disease diagnosis, and pharmacogenetic studies.

Introduction

MAZAHUA AMERINDIAN GROUPS live today in the rainy and wild mountains of Mexico and in the Michoacan States in Mexico. They speak Mazahua, which belongs to the Otomangue group (Scheffler, 1992). Some historians relate Mazahuas with northern desert groups that migrated southwards during the VI-XIII centuries AD and belong to part of the Chichimecan ethnic group; Mazahuas joined with Spanish invaders against the Mexican Empire after 1521 AD (<http://ignorantisimo.free.fr/CELA/docs/Mazahuas.pdf>). They have also migrated to many other parts of Mexico.

In the present work, we aim to study the human leukocyte antigen (HLA)-DRB1 profile of Mazahuas-speaking people from North Mexico State and also from nearby Michoacan State in the rainy and cool mountains (Mexico). We also aim to relate this profile with other Amerindians and worldwide populations in order to establish degrees of genetic relatedness with different populations.

Materials and Methods

Population sampling

We studied 65 healthy unrelated volunteers from a Mazahua ethnic group living in a little relatively isolated village, Jaltepec, close to San Felipe del Progreso (Mexico State) (Fig. 1). Each individual had a Mexican Amerindian physical appearance and their four grandparents were born in the same area and spoke Mazahua. The present study was approved by the Bioethics and Research Committee from the Instituto Nacional de Cardiología and all study subjects voluntarily signed an informed consent letter. The origin of all other populations used for comparisons are detailed in Figure 2. A total of 14,996 chromosomes were studied, including populations from different origins (Caucasoids, Orientals, Negroids, Polynesians, Micronesians, Na-Dene, Eskimos, and Amerindians). In particular, the Amerindian group includes groups belonging to the following linguistic families: Macro-Mixteco (Mixtecos, Zapotecs, and

¹Department of Immunology, University Complutense, The Madrid Regional Blood Center, Madrid, Spain.

²Department of Hematology, The Madrid Regional Blood Center, Madrid, Spain.

³Facultad de Química, Departamento de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico City, Mexico.

⁴Department of Molecular Biology, Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez, Mexico City, Mexico.

⁵Immunogenetics Division, Transplantation Department, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubiran, Mexico City, Mexico.

***Las Alpujarras* region (South East Spain) HLA genes study: evidence of a probable success of 17th century repopulation from North Spain**

Javier Longie · Jorge Martínez-Laso · Diego Rey · Cristina Arenas ·
 Eduardo Gómez Casado · Carlos Parga-Lozano · Francisco Luna ·
 Mercedes Enriquez de Salamanca · Pedro Moral · Antonio Armada-Villena

Received: 20 February 2011 / Accepted: 14 May 2011
 © Springer Science+Business Media B.V. 2011

Abstract Conquest of Granada Muslim Kingdom (1492 AD) finished with Muslim occupation; they were mostly North African Berbers who had reached Iberia by 711 AD. A politics of Iberian Christianization followed after this date: Jewish were expelled in 1492 and Moriscos (Spaniards practicing Muslim religion or speaking Arab) were expelled from all Spanish territory on 1609 AD. *Las Alpujarras* is a southern Spain mountainous secluded region, which underwent a repopulation from North Spain and a specific Muslim (*Moriscos*)-Christian war took place according to historical records. Both *Las Alpujarras* repopulation by northern Iberians and *Moriscos* expulsion success have been debated and are regarded as non-clarified episodes. In this study, we have addressed the question whether the repopulation succeeded by determining HLA genes of present day *Las Alpujarras* inhabitants and compared with those of other Mediterranean populations. HLA frequencies and genealogies. HLA frequencies show

ambiguous results because of extant HLA similar gene frequencies there exist in North Africa and Spain. This is reflected by the finding of North and South western Mediterranean closer relatedness of HLA dendrograms and correspondence analyses. However, the genealogical study of extended HLA haplotypes particularly Alpujarran high frequency of HLA-A29-B44-DR-B1*0701-DQ-A1*02-DQ-B1*02 (not found in Algerians but frequent in North and Central Spain) and Alpujarran low frequency extended haplotype HLA-A3-B7-DR-B1*1501-DQ-A1*0102-DQ-B1*0602 (frequent in North Europe) reveals that a significant HLA gene flow from North Spain is observed in present day Alpujarrans: both haplotypes are characteristic of North Spain and North Europe, respectively. This may indicate that enforced Alpujarran repopulation from North Spain may have been a success, which was started by Spanish King Philip II in 1571 AD.

Keywords *Las Alpujarras* · HLA · Moriscos · Spaniards · Berbers

J. Longie · D. Rey · C. Arenas · E. G. Casado ·
 C. Parga-Lozano · M. E. de Salamanca · A. Armada-Villena (✉)
 Department of Immunology, School of Medicine, Universidad Complutense, The Madrid Regional Blood Center, Av.
 Democracia 46, 28002 Madrid, Spain
 e-mail: armada@med.ucm.es
 URL: <http://dtopo.park.mec.ucm.es/>

J. Martínez-Laso
 Unidad de Inmunogenética Celular, Centro Nacional de
 Microbiología, Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain

F. Luna
 Departamento de Zoología y Antropología Física, Universidad
 Complutense de Madrid, Madrid, Spain

P. Moral
 Unidad de Antropología, Departamento de Biología Animal,
 Universidad de Barcelona, Barcelona, Spain

Introduction

Las Alpujarras is a south-eastern Spanish region relatively secluded between mountains and the Mediterranean sea and characterized by a deep valleys and high mountains geography (see map, Fig. 1).

Little is known about population characteristics and density before the Muslim invasion (711 AD) who was carried out mostly by North African Berbers, recently recruited by Arabians [1], but it is admitted to be similar to the surrounding Iberian people [2–5]. Iberia had in its south part (including *Las Alpujarras*) a mesolithic-agricultural culture by at least 5,500 year BC (or earlier) and later cultural settlements were established (Los Millares and El

Published online: 03 June 2011

 Springer

Amerindians normalized waist circumference and obesity diagnosis standardized by biochemical and HLA data

Antonio Amato-Villena · Mercedes Fernández-Hernando · Cristina Arenas ·
Ignacio Arribas · Carmen Coca · Mercedes Rodríguez-Salmeán ·
Carlos Parga-Lozano · Sudeha Abd-El-Fattah · Diego Rey

Received: 26 June 2011 / Accepted: 2 November 2011
© Springer Science+Business Media B.V. 2011

Abstract Metabolic syndrome (MS) and obesity are principal causes of morbidity all over the World, particularly for their association to cardiovascular risk. Amerindians are often living in countries and remote areas with unavailable sophisticated diagnosis methodologies. However, waist-circumference is a reliable and easy to record parameter of visceral obesity and MS. Waist circumference normal values are not yet established in Amerindians: South Asian and Japanese values have been recommended for Amerindian use. The purpose of this study is to objectively define for the first time the waist circumference measure cut-off points for Amerindians. A total of 303 unrelated Amerindian adults recently immigrated to Madrid were studied; they were healthy, since they were questioned and listed as appropriate for blood donation. Waist-circumference was measured in these voluntary blood donors after written consent. Chosen subjects for study had HLA quasi-specific Amerindian genes and not

gained weight since their relatively short time living in Spain. Amerindians with Type I or II diabetes or family antecedents were removed from the study. The biochemical parameter used to define normality for MS was the reliable serum HDL-cholesterol levels, whose values are diet independent. A Receiver Operating Characteristic analysis was used to compare the predictive validity and to find out the optimal cut-off points of waist circumference normal values. Cut-off points were ≥ 98.5 cm in males and ≥ 82.5 cm in females; these values were close to the median values (98 and 82.2 cm, respectively). Obtained waist circumference values recorded here in normal Amerindians are different to those previously recommended indirectly (those of South Asian/Japanese populations). These parameters may be of great value for American countries health care in order to predict and control MS and its cardiovascular complications. Other countries having a heavy Amerindian immigration (i.e.: USA, Spain) may also benefit for establishing specific Preventive Medicine programs.

A. Amato-Villena (✉) · M. Fernández-Hernando · C. Arenas ·
M. Rodríguez-Salmeán · C. Parga-Lozano ·
S. Abd-El-Fattah · D. Rey
Department of Immunology, Facultad de Medicina,
University Complutense, The Madrid Regional Blood Center,
Madrid, Spain
e-mail: amato@hspg.parc.msc.madrid.es
URL: <http://hspg.parc.msc.madrid.es/>

Present Address:
A. Amato-Villena
Departamento de Inmunología, Facultad de Medicina,
The Madrid Regional Blood Center, Universidad Complutense,
Bulevar 5, plaza A. Arce, Complutense s/n, 28002 Madrid,
Spain

I. Arribas · C. Coca
Department of Biochemistry, Hospital Príncipe de Asturias,
Alcalá de Henares, Madrid, Spain

Keywords Amerindian · Cholesterol · Metabolic syndrome · Obesity · Waist circumference · HLA

Introduction

Central obesity is an important factor in the etiology of Metabolic Syndrome (MS), a pathology highly associated with a risk of type II diabetes mellitus and cardiovascular diseases. The waist circumference measure is an easy-to-measure parameter to identify reliably visceral adiposity, and therefore to detect individuals and populations at risk for obesity and cardiovascular diseases [1]. However, it is known that this criterion cannot be applied uniformly to all

Published online: 12 November 2011

 Springer

Anexo 3: Tabla completa de Haplotipos extendidos.

Haplotipos extendidos HLA-A, -B, DR y -DQ presentes en la población Mapuche.

Haplotipos extendidos	%
A*68:01 B*39:09 DRB1*08:02 DQB1*04:02	3,846
A*68:01 B*51:01 DRB1*04:03 DQB1*03:02	2,404
A*03:01 B*07:02 DRB1*15:01 DQB1*06:02	1,923
A*29:01 B*08:01 DRB1*03:01 DQB1*02:01	1,923
A*68:01 B*35:04 DRB1*14:02 DQB1*03:01	1,923
A*02:01 B*15:01 DRB1*04:03 DQB1*03:02	1,442
A*02:01 B*39:09 DRB1*14:02 DQB1*03:01	1,442
A*33:01 B*14:02 DRB1*07:01 DQB1*03:03	1,442
A*68:01 B*39:01 DRB1*14:02 DQB1*03:01	1,442
A*02:01 B*08:01 DRB1*03:01 DQB1*03:01	0,962
A*02:01 B*39:09 DRB1*16:02 DQB1*03:01	0,962
A*02:01 B*57:03 DRB1*11:03 DQB1*03:01	0,962
A*31:01 B*27:05 DRB1*14:02 DQB1*03:01	0,962
A*68:01 B*35:20 DRB1*04:07 DQB1*03:02	0,962
A*68:01 B*39:09 DRB1*04:03 DQB1*03:02	0,962
A*68:01 B*39:09 DRB1*14:02 DQB1*03:01	0,962
A*68:01 B*39:09 DRB1*16:02 DQB1*03:01	0,962
A*01:01 B*38:01 DRB1*11:04 DQB1*03:01	0,481
A*01:01 B*38:01 DRB1*14:06 DQB1*03:01	0,481
A*01:01 B*39:03 DRB1*15:01 DQB1*02:01	0,481
A*01:01 B*39:06 DRB1*04:03 DQB1*03:02	0,481
A*01:01 B*51:01 DRB1*11:01 DQB1*04:02	0,481
A*01:01 B*57:01 DRB1*07:01 DQB1*03:03	0,481
A*02:01 B*07:02 DRB1*01:01 DQB1*05:01	0,481
A*02:01 B*08:01 DRB1*15:01 DQB1*03:03	0,481
A*02:01 B*14:02 DRB1*07:01 DQB1*03:03	0,481
A*02:01 B*35:01 DRB1*07:01 DQB1*03:03	0,481
A*02:01 B*35:01 DRB1*11:01 DQB1*03:01	0,481
A*02:01 B*35:03 DRB1*04:03 DQB1*03:02	0,481
A*02:01 B*35:04 DRB1*16:02 DQB1*03:01	0,481
A*02:01 B*39:01 DRB1*16:02 DQB1*04:02	0,481
A*02:01 B*39:06 DRB1*14:02 DQB1*03:01	0,481
A*02:01 B*39:06 DRB1*16:02 DQB1*03:01	0,481
A*02:01 B*39:09 DRB1*04:03 DQB1*03:02	0,481
A*02:01 B*44:02 DRB1*13:01 DQB1*03:02	0,481
A*02:01 B*51:02 DRB1*14:02 DQB1*03:01	0,481
A*02:01 B*57:01 DRB1*04:03 DQB1*06:03	0,481
A*02:01 B*57:01 DRB1*08:02 DQB1*04:02	0,481
A*03:01 B*08:01 DRB1*03:02 DQB1*03:02	0,481
A*03:01 B*51:01 DRB1*07:01 DQB1*03:03	0,481
A*03:01 B*57:03 DRB1*14:02 DQB1*03:01	0,481

continúa	Haplotipo	%
	A*10:10 B*57:03 DRB1*07:01 DQB1*03:03	0,481
	A*11:01 B*27:05 DRB1*04:03 DQB1*02:01	0,481
	A*11:01 B*35:01 DRB1*03:01 DQB1*02:01	0,481
	A*23:01 B*57:01 DRB1*07:01 DQB1*06:02	0,481
	A*24:02 B*15:03 DRB1*13:02 DQB1*06:04	0,481
	A*24:02 B*35:01 DRB1*04:03 DQB1*03:02	0,481
	A*24:02 B*39:01 DRB1*01:01 DQB1*03:02	0,481
	A*24:02 B*39:01 DRB1*08:02 DQB1*03:01	0,481
	A*25:01 B*44:02 DRB1*14:02 DQB1*03:01	0,481
	A*29:01 B*44:03 DRB1*04:07 DQB1*03:02	0,481
	A*30:02 B*08:01 DRB1*13:02 DQB1*06:09	0,481
	A*31:01 B*15:08 DRB1*08:02 DQB1*04:02	0,481
	A*31:01 B*35:01 DRB1*14:02 DQB1*03:01	0,481
	A*31:01 B*39:03 DRB1*14:02 DQB1*02:01	0,481
	A*31:01 B*39:09 DRB1*07:01 DQB1*03:03	0,481
	A*31:01 B*58:01 DRB1*13:02 DQB1*06:09	0,481
	A*32:01 B*08:01 DRB1*03:01 DQB1*02:01	0,481
	A*32:01 B*39:01 DRB1*16:02 DQB1*03:01	0,481
	A*33:01 B*14:01 DRB1*04:03 DQB1*02:01	0,481
	A*33:01 B*39:01 DRB1*04:03 DQB1*03:02	0,481
	A*68:01 B*15:01 DRB1*04:04 DQB1*03:02	0,481
	A*68:01 B*35:01 DRB1*07:01 DQB1*03:02	0,481
	A*68:01 B*35:04 DRB1*04:03 DQB1*03:02	0,481
	A*68:01 B*39:01 DRB1*08:02 DQB1*04:02	0,481
	A*68:01 B*39:14 DRB1*14:02 DQB1*02:01	0,481
	A*68:01 B*40:09 DRB1*08:02 DQB1*04:02	0,481
	A*68:01 B*44:03 DRB1*07:01 DQB1*03:01	0,481
	A*68:01 B*48:01 DRB1*04:03 DQB1*05:01	0,481
	A*68:01 B*48:01 DRB1*11:01 DQB1*03:01	0,481
	A*68:01 B*51:01 DRB1*11:01 DQB1*03:01	0,481
	A*68:01 B*52:01 DRB1*04:03 DQB1*03:02	0,481
	A*68:01 B*58:01 DRB1*15:01 DQB1*06:02	0,481
	A*68:01 B*78:02 DRB1*04:03 DQB1*03:02	0,481
	A*68:16 B*35:04 DRB1*04:04 DQB1*03:02	0,481
	A*68:16 B*39:03 DRB1*04:07 DQB1*03:02	0,481
	A*68:16 B*39:09 DRB1*16:02 DQB1*03:01	0,481
	A*68:23 B*27:05 DRB1*08:02 DQB1*03:01	0,481
	A*80:01 B*44:03 DRB1*13:02 DQB1*06:09	0,481